

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Gesundheitliche Aspekte von Alkylresorcinolen und ihre Funktion als Ballaststoffbiomarker“

Verfasserin

Birgit Steinmaurer

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 474

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Ernährungswissenschaften

Betreuer:

Univ- Prof. Dr. Jürgen König

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr. Jürgen König, der mir diese Arbeit ermöglicht hat und jederzeit für alle Fragen ein offenes Ohr hatte.

Besonderer Dank geht an meine Familie die immer an mich geglaubt hat und mit Stolz meinen bisherigen Lebensweg verfolgt hat.

Auch meinen Freunden möchte ich auf diesem Weg danken, mit denen ich an den meisten Dienstagen und etlichen anderen Tagen meiner Studienzeit gemütliche, lustige und bereichernde Stunden verbracht habe.

Zoltan danke ich für seine Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Spezieller Dank und Liebe gilt meiner Tochter Milena, die mir mit ihrer Geburt gezeigt hat, dass die wirklich wichtigen Dinge im Leben ganz klein anfangen.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	V
Abkürzungsverzeichnis.....	VI
1 Einleitung	1
2 Gesundheit.....	3
2.1 Gesundheitsdefinition.....	3
2.2 Salutogenese.....	4
2.3 Gesundheitsförderung und Prävention	5
2.3.1 Die Ottawa-Charta	7
2.4 New Public Health.....	8
2.5 Public Health Nutrition	9
3 Biomarker	10
3.1 Ernährungsbezogene Biomarker.....	11
3.2 Anforderungen an einen Ernährungsbiomarker.....	12
3.3 Einflussfaktoren von Ernährungsbiomarkern [Jenab M. et al, 2009]	13
3.3.1 Genetische Variabilität.....	13
3.3.2 Lifestyle und physiologische Faktoren	13
3.3.3 Ernährungsabhängige Faktoren	13
3.3.4 Probenmaterial	14
3.3.5 Analysemethoden	14
3.4 Beispiele für Ernährungsbiomarker	14
3.4.1 Vitamin C.....	14
3.4.2 Carotinoide.....	15
3.4.3 Biomarker von Fleisch und Fleischprodukten.....	15
3.5 Einteilung der Ernährungsbiomarker	16
3.5.1 Krankheitsbezogene Biomarker	16
3.5.2 Gesundheitsbezogene Biomarker	16
4 Nutrigenomische Grundlagen	17
4.1 Die „Omics“-Forschung	17

4.1.1	Nutrigenetik und Nutrigenomik	19
4.1.2	SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms).....	20
4.1.3	Transkriptomik.....	21
4.1.4	Proteomik	21
4.1.5	Metabolomik	21
4.2	Die Entwicklung neuer Biomarker mittels Metabolomik	23
5	Ballaststoffe	25
5.1	Definition	25
5.2	Funktionelle Ballaststoffe	26
5.3	Empfehlungen zur Ballaststoffzufuhr und die Situation in Österreich.....	26
5.4	Die Fiber-Hypothese.....	27
5.5	Eigenschaften der Ballaststoffe	27
5.6	Ballaststoffe und ihr gesundheitlicher Nutzen	28
5.6.1	Physikalisch-chemische Eigenschaften.....	28
5.6.2	Bindung von Gallensäure.....	28
5.6.3	Senkung des Blutglucosespiegels	28
5.6.4	Kardiovaskuläre Erkrankungen.....	29
5.6.5	Obstipation	29
5.6.6	Krebsprävention	29
5.6.7	EPIC-Studie Krebsforschung	32
6	Alkylresorcinole.....	33
6.1	Vorkommen in Nahrungsmitteln.....	35
6.2	AR-Metabolite: (DHBA, DHPPA)	36
6.3	Physiologische Funktionen	39
6.3.1	Absorption	39
6.4	Metabolismus	39
6.4.1	Transport in Lipoproteinen.....	39
6.4.2	Antioxidativer Effekt von Alkylresorcinolen	40
6.4.3	Antimikrobieller Effekt von AR	41
6.4.4	Einfluss auf den Vitamin-E-Status.....	41
6.4.5	Interaktion mit Enzymen	42
6.5	Resorcinole und Sphingomyelin-Cholesterol-Liposomen	42

6.6	Biomarker für die Ballaststoffaufnahme.....	45
6.7	Analytik	45
6.7.1	Analyse im Urin	46
6.7.2	Analyse im Blut.....	48
6.7.3	Dünnschichtchromatografie	48
6.7.4	Gaschromatographie (GC).....	49
6.7.5	High-Performance-Liquid-Chromatographie (HPLC).....	49
6.8	Zusätzliche Funktionen von Alkylresorcinolen.....	50
6.8.1	Mögliche Alkylresorcinol-Anreicherung von Lebensmitteln.....	50
6.8.2	Authentizitätsprüfung in Lebensmitteln	51
6.8.3	Krebspräventive Wirkung von Alkylresorcinolen.....	51
6.8.4	Zufuhr von Alkylresorcinolen	54
6.8.5	Entwicklung neuer Weizensorten mit gesundheitlichem Nutzen	55
7	Schlussbetrachtung	57
7.1	Alkylresorcinole als Biomarker von Vollkornweizen und –Roggen-Aufnahme.....	57
7.2	Bioaktivität von ARs	59
7.3	Alkylresorcinol als Marker des Vollkorngehalts in Lebensmitteln	60
7.4	Alkylresorcinol als Biomarker der Compliance in Studien	60
7.5	Entwicklungen im Bereich der Metabolomikforschung.....	61
8	Literaturverzeichnis.....	63
9	Zusammenfassung.....	71
10	Abstract	73
	Lebenslauf	75

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zusammenhänge zwischen sozialer und gesundheitlicher Ungleichheit [Rosenbrock R. 2001]	6
Abbildung 2: Beispiele für Surrogatmarker und klinische Endpunkte [Lesko LJ und Atkinson AR, 2001].....	10
Abbildung 3: Umwelt- und genetischer Einfluss auf Expression und Metabolismus. [Nicholson JK et al, 1999]	18
Abbildung 4: Mögliche Interaktionen von Nahrungszufuhr und Ernährungsbiomarkern, gemessen zur genetischen Variabilität und zum Krankheitsrisiko [Jenab M. et al, 2009]	23
Abbildung 5: Physiologische Funktionen von Vollkorngetreide [Fardet A., 2010]	31
Abbildung 6: Struktur von 5-n-alkyl-, 5-alkenyl-, 5-(oxoalkyl)-, 5-(oxoalkenyl)-, und 5-(hydroxyalkenyl)-resorcinol isoliert aus Weizen und Roggen. [Ross AB et al, 2004]	34
Abbildung 7: Aufbau eines Weizenkorns [Fardet A. 2010]	35
Abbildung 8: (a) Grundstruktur von Alkylresorcinol und die zwei Metabolite in Urin und Plasma (b) 3,5 Dihydroxybenzoesäure (c) 3,5-Dihydroxyphenylpropansäure [Ross AB, 2012]	36
Abbildung 9: Mechanismus des Alkylresorcinol-Metabolismus mit C15:0 als Beispiel (Ross AB et al, 2004)	38
Abbildung 10: Struktur von Alkylresorcinol aus Roggen (C15:0 und C25:0) (A) und MSAR (1-sulphate-3-myristoyl-5-pentadecylbenzen) (B). [Zant-Przeworska et al, 2010]	44
Abbildung 11: Probenprotokoll für DHBA und DHPPA in Urin. [Koskela A. et al, 2007]	47
Abbildung 12: 5-n-heptadecylresorcinol (1), (12'Z)-5-(heptadec-12'-enyl)resorcinol (2), 5-n-nonadecylresorcinol (3), (14'Z)-5-(nonadeca-14'-enyl)resorcinol (4),(12'Z)-5-(nonadeca-12'-enyl)resorcinol (5), 5-(nonadeca-10',13'-dienyl)resorcinol (6), 5-(nonadeca-10',13',16'-trienyl)resorcinol (7), 5-n-heneicosylresorcinol (8), (16Z')-5-	

iloxoheneicosyl)resorcinol (11), 5-n-tricosylresorcinol (12), 5-(2'-oxotricosyl)resorcinol (13), 5-n-pentadecylresorcinol (14). [mod. Zhu Y. et al, 2011].....	53
--	----

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Unterscheidung von Gesundheitsförderung und Prävention [Trojan und Legewie 2001]	8
Tabelle 2: Validierung eines Biomarkers am Beispiel von Alkylresorcinol. (mod. nach [Ross AB, 2011])	59

Abkürzungsverzeichnis

MS	Massenspektrometrie
LDL	low density lipoproteins
HDL	high density lipoproteins
VLDL	very low density lipoproteins
mRNA	messenger RNA
HNMR	nuclear magnetic resonance
SCFA	short chain fatty acid
HbA1c	Hämoglobin A1c
CRP	C-reaktives Protein
TCF7L2	Transcription factor 7-like 2
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
DEAE	Diethylaminoethyl
HepG2-Zellen	human hepatocellular carcinoma (Lebertumorzelllinie)
3T3-L1-Zellen	Zelllinie aus embryonalen Mäusefibroblasten, die nach ihrer Differenzierung Fettzellen ähneln
FFQ	Food Frequency Questionnaire

1 Einleitung

Gesundheit ist eines der wertvollsten Güter des Menschen und eines der Grundrechte, das jedem zusteht. Die Anschauungsweise, ob Gesundheit ein Zustand des völligen nicht-Vorhandenseins einer Krankheit ist und Krankheit die Gesundheit völlig ausschließt, oder ob es doch ein fließendes in-sich Übergehen beider Prozesse ist, gewann in den 70er Jahren durch Antonovsky an Bedeutung [Hartung S., 2011].

Durch die Entdeckung der Salutogenese betrachtete man Gesundheit und Krankheit plötzlich als einen homöostatischen Zustand. Gesundheitsförderung und Prävention sollen vermeiden, dass durch eine schwere und langandauernde Krankheit dieser homöostatische Zustand aus dem Gleichgewicht gerät. Das führte zur Entwicklung des Wissenschaftsgebiet der Public Health und der Förderung von gesundheitspolitischen Programmen und der Bewusstseinsmachung, dass Gesundheitsförderung und Prävention ein gesellschaftliches Zusammenarbeiten ist und nicht das Problem des Einzelnen [Rosenbrock R., 2001].

Die Medizin setzt beim Thema Prävention auf Biomarker, die eine frühe Erkennung von krankmachenden Einflüssen erkennen lassen sollen. Blutanalysen, Röntgen oder Blutdruckmessungen sind täglicher Bestand in der Früherkennung von Krankheiten [Schmitz, Endres, Götte, 2008].

In der Ernährungswissenschaft sind mittlerweile auch Biomarker im Einsatz, um die Entstehung ernährungsabhängiger Erkrankungen wie Adipositas, Diabetes Mellitus Typ 2, chronische Darmerkrankungen oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen zu vermeiden. Vitaminspiegel, Blutfett oder –zuckerwerte sind hier gängige Parameter, aber auch in den Lebensmitteln selbst werden Biomarker in Form von Mikro- oder Makronährstoffen analysiert, um einen möglichen gesundheitlichen Nutzen dieser Produkte zu erkennen. Dass jedoch nicht jeder Mensch den gleichen Nutzen daraus ziehen kann, ließ erkennen, dass es eine genetische Konstante gibt, die einen

erheblichen Einfluss auf die Absorptions- oder Eliminationsrate von Nährstoffen hat [Freedman L. S. et al, 2010].

Die Nutrigenomik ist ein Wissenschaftszweig, der sich mit Genomen, Transkriptomen, Metabolomen und dem Phänotyp beschäftigt. Die sogenannte „Omics-Kaskade“ hilft dabei, Zusammenhänge zwischen Ernährung, äußeren Umwelteinflüssen und genetischer Variabilität zu verstehen. Das Ziel wäre es, eine individualisierte Ernährung zu entwickeln, um chronische, ernährungsabhängige Krankheiten in Zukunft vermeiden zu können [Kusmann M. et al, 2006].

Da einige Studien belegen, dass Ballaststoffe einen positiven gesundheitlichen Nutzen haben, liegt die Empfehlung zur täglichen Aufnahme bei 30g/Tag [DACH, 2008]. Wenn man nun die Tatsache betrachtet, dass es von vielen Einflüssen abhängt (Genetik, Umwelt, Lebensweise), wieviel ein Mensch davon tatsächlich konsumiert oder metabolisiert, stellt sich die Frage, wie man die Zufuhr von Ballaststoffen messen kann. Da gerade Vollkorngetreide als eine wertvolle Ballaststoffquelle gilt, erfüllen die in der äußeren Kornsicht von Weizen und Roggen entdeckten Alkylresorcinole, möglicherweise die Anforderungen eines Ballaststoffbiomarkers aus Getreide [Landberg R. et al, 2008].

Diese Arbeit soll unter anderem einen Einblick in das Thema Gesundheit, Public Health und Prävention geben. Betrachtet werden die Aufgaben der Nutrigenomik sowie die Rolle der Biomarker in der Ernährung. Der Schwerpunkt liegt dabei speziell auf den Alkylresorcinolen und ihrer Nutzbarkeit als Ballaststoffmarker. Dabei gilt es festzustellen, inwieweit sich die Alkylresorcinole als Ballaststoffmarker eignen und welcher gesundheitliche Nutzen sich daraus ableiten lässt.

2 Gesundheit

2.1 Gesundheitsdefinition

„Obschon die Gesundheit das größte aller den Leib betreffenden Güter darstellt, ist sie dennoch dasjenige, über das wir am wenigstens nachdenken und wir am wenigstens genießen: wenn man sie hat, denkt man nicht daran.“ (Descartes)

„Gesundheit ist ein Zustand des vollständigen körperlichen geistigen und sozialen Wohlbefindens und nicht nur die Abwesenheit von Krankheit und Gebrechen. Sich des bestmöglichen Gesundheitszustandes zu erfreuen, ist eines der Grundrechte des Menschen, ohne Unterschied der Rasse, der Religion, der politischen Überzeugung, der wirtschaftlich oder sozialen Stellung“ (WHO 1948). Diese Definition ist seit 1948 in Verwendung. Somit wird unter Gesundheit nicht nur der Zustand des Menschen ohne physisches Gebrechen verstanden, sondern das Vorhandensein zusätzlicher Faktoren, wie soziale Unabhängigkeit, psychische Stabilität und geistige Fitness. Da eine kontinuierliche Erfüllung dieser Bedingungen nicht immer möglich bzw. unter gewissen Lebensumständen (Alter, Arbeitslosigkeit, Armut usw.) sogar nahezu unmöglich ist, wäre nach dieser Definition jeder Mensch auf irgendeine Art und Weise krank. Faltermaier (2006), als Gesundheitspsychologe und Gesundheitswissenschaftler, sieht die Gesundheit als „körperliches und psychisches Wohlbefinden, aktionale Momente wie die Leistungs- und Handlungsfähigkeit sowie ein Gleichgewicht zwischen externen (sozialen) Anforderungen und psychophysischen Bedürfnissen“. Daraus lässt sich jedoch ableiten, dass auch ein chronisch kranker Mensch ein erfülltes Leben führen kann [Hartung S., 2011].

2.2 Salutogenese

In den 70er Jahren führte Aaron Antonovsky den Begriff der Salutogenese ein. Dieser beruht darauf, dass Krankheit und Gesundheit sich nicht gegenseitig ausschließen. Gesundheit ist nichts Gegebenes und wird somit ständig neu erworben. Das bedeutet, dass auch Menschen, die beispielsweise chronisch krank sind, ein ausgefülltes und zufriedenes Leben führen können und sich mit ihrer Situation vereinbaren können. Krankheit und Gesundheit ist somit ein Zustand, der fließend und abwechselnd ineinander übergeht (Gesundheits-Krankheits-Kontinuum) und unter dem Einfluss von **Stressoren** steht. Unter Stressoren versteht Antonovsky die von innen und außen kommenden Herausforderungen, die das Gleichgewicht stören können [Rosenbrock R., 2001]. Antonovsky stellte sich die Frage, warum Menschen gesund bleiben, obwohl sie unter z.B krankmachenden und unmenschlichen Bedingungen leben. Damit wurde von ihm der Begriff der **Kohärenz** formuliert (Sense of Coherence). Demnach müssen für das Entstehen des Kohärenzgefühls, folgende Bedingungen erfüllt werden:

1. Ereignisse sind im Leben vorhersehbar und entsprechen einer Struktur (= Verstehbarkeit).
2. Ressourcen stehen zur Verfügung, die jeder für sich bestmöglich nutzen kann, um den Anforderungen dieser Ereignisse zu bestehen (=Machbarkeit).
3. Diese Ereignisse sind eine persönliche Herausforderung, die einen prägen und wachsen lassen (=Bedeutsamkeit).

Die Pathogenese und Salutogenese gehen Hand in Hand und eine Krankheit wird als homöostatische (der Mensch ist gleichzeitig gesund und krank) Störung betrachtet. Durch die medizinische Lehre wurde jedoch das salutogenetische Denken aus den Köpfen verdrängt, bzw. durch ein rein krankheitsorientiertes Denken ersetzt. Weiters kommt in Fachzeitschriften der Medizin das Wort „Gesundheit“ kaum mehr vor. Es wird nur mehr von „Krankheit“ gesprochen. Die Medizin wird somit teilweise als eine „Wissenschaft der Krankheit bezeichnet“ [Gadamer HG, 1994]. Methoden wie

Physiotherapie, Ernährungsmedizin oder Reha-Medizin können jedoch bereits zu den Bereich der Salutogenese gezählt werden. Sie dienen schließlich dazu, die körpereigenen Ressourcen in Kraft zu setzen und zu stärken. Unter Berücksichtigung dieser Entwicklung, sollte die Medizin den Patienten nicht automatisch als Kranken, sondern als komplexes Wesen behandeln [Nagel G., 2000].

2.3 Gesundheitsförderung und Prävention

In den industrialisierten Ländern gibt es vier Haupttodesursachen (big killers), die für einen vorzeitigen Tod verantwortlich sind: Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Krebserkrankungen, respiratorische Erkrankungen und tödliche Unfälle. Chronische Erkrankungen (big crippers) wie Diabetes Mellitus, degenerative Muskel- und Skeletterkrankungen, psychische Leiden und Suchterkrankungen werden jährlich mehr. Gesundheitspolitisch wird deshalb vermehrt auf die Verbesserung der Prävention und Gesundheitsförderung Wert gelegt. Es wird vermutet, dass die steigende Lebenserwartung auch zwingend zu steigenden medizinischen Kosten führt. Diese Annahme ist jedoch falsch, da die Bevölkerung auch immer gesünder älter wird. Bezüglich der chronischen Erkrankungen ist festzuhalten, dass die betroffenen Personen vermehrt in den unteren sozio-ökonomischen Schichten zu finden sind. Wesentliche Zusammenhänge zwischen denjenigen sozialen Bedingungen einerseits, die ein gesundheitsbelastendes Verhalten mit sich ziehen, bzw. den Unterschieden in gesundheitlicher Ungleichheit andererseits, sind in der Abbildung 1 verdeutlicht [Rosenbrock R. 2001].

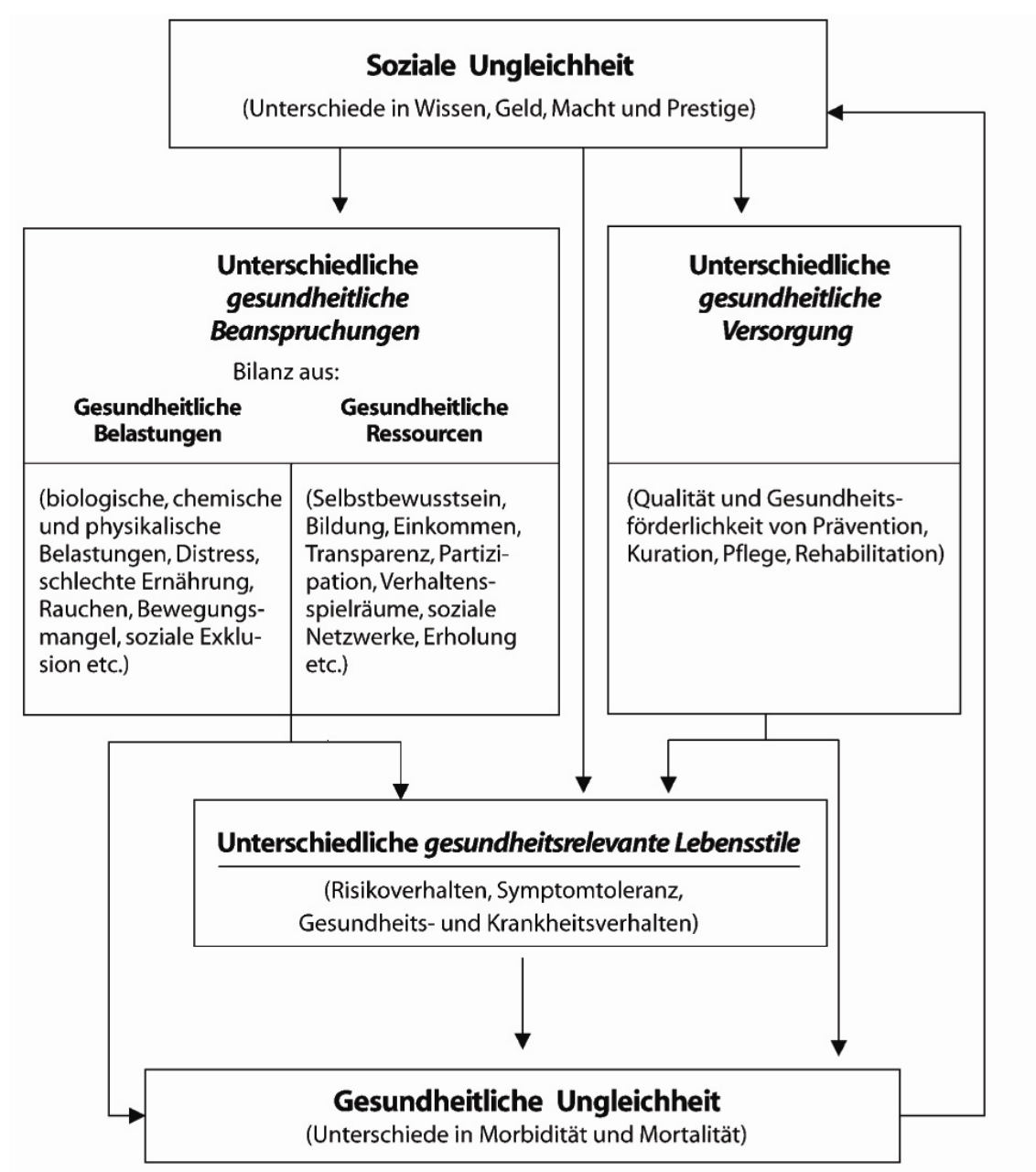


Abbildung 1: Zusammenhänge zwischen sozialer und gesundheitlicher Ungleichheit [Rosenbrock R. 2001]

Die Bedeutung von Gesundheitsförderung und Prävention wurde bereits (1986) über das in der Ottawa-Charta entwickelten Konzepts der Gesundheitsförderung aufgegriffen. Demnach soll offenkundig wieder mehr Augenmerk auf das Gedankengut der Salutogenese gelegt werden.

2.3.1 Die Ottawa-Charta

Am 21. November 1986 fand in Ottawa die erste internationale Konferenz zur Gesundheitsförderung statt. Unter Beteiligung von 250 Teilnehmern aus 35 Ländern, sollte das Ziel „Gesundheit für alle“ bis zum Jahr 2000 umgesetzt werden. Damit wurden die Länder aufgefordert mehr gesundheitsfördernde Programme zu entwickeln. Folgende Definition wurde dabei geltend gemacht:

„Gesundheitsförderung zielt auf einen Prozess, allen Menschen ein höheres Maß an Selbstbestimmung über ihre Gesundheit zu ermöglichen und sie damit zur Stärkung ihrer Gesundheit zu befähigen. Um ein umfassendes körperliches, seelisches und soziales Wohlbefinden zu erlangen, ist es notwendig, dass sowohl einzelne als auch Gruppen ihre Bedürfnisse befriedigen, ihre Wünsche und Hoffnungen wahrnehmen und verwirklichen sowie ihre Umwelt meistern bzw. sie verändern können. In diesem Sinne ist die Gesundheit als ein wesentlicher Bestandteil des alltäglichen Lebens zu verstehen und nicht als vorrangiges Lebensziel. Gesundheit steht für ein positives Konzept, das die Bedeutung sozialer und individueller Ressourcen für die Gesundheit ebenso betont wie die körperlichen Fähigkeiten. Die Verantwortung für Gesundheitsförderung liegt deshalb nicht nur bei dem Gesundheitssektor, sondern bei allen Politikbereichen und zielt über die Entwicklung gesünderer Lebensweisen hinaus auf die Förderung von umfassendem Wohlbefinden.“ [WHO, 1986]

Die Zusammenhänge zwischen Gesundheitsförderung und Prävention wurden in Bezug auf die WHO-Definition der Ottawa-Charta vielfach diskutiert. Die vielschichtigen Parameter wurden im Sinne von Krankheitsvermeidung und Gesunderhaltung wie folgt dargestellt (siehe Tabelle 1):

Gesundheitsförderung		Prävention
Salutogenetisch: Gesundheit ist ein positives multidimensionales Konzept	Gesundheitsbegriff	Pathogenetisch: Gesundheit ist die Abwesenheit von Erkrankungen
Partizipatorisch	Modell	Medizinisch
Bevölkerung in ihrem gesamten Umfeld →Verhältnisansatz	Zielgruppe	Risikogruppen→ Verhaltensansatz
Aufbau von Gesundheitsressourcen	Ziel	Reduktion von Gesundheitsrisiken
Verschiedene, einander ergänzende Strategien	Strategie	Eindimensionale Strategie
Befähigung und Unterstützung	Ansatz	Direktiv
An sozialen und Umweltfaktoren	Orientierung	Individuen- oder gruppenorientiert
Bezieht Laien, Organisation, BürgerInnen, politische Instanzen von der lokalen bis zur nationalen Ebene mit ein	Akteure	Health Professionals

Tabelle 1: Unterscheidung von Gesundheitsförderung und Prävention [Trojan und Legewie 2001]

2.4 New Public Health

Aus diesen Betrachtungsweisen der Gesundheit und Prävention hat sich in den 90er Jahren ein neuer Wissenschaftszweig entwickelt. Public Health ist eine Multidisziplin aus Medizin, Sozialepidemiologie, Ökonomie, Politikwissenschaft, Soziologie, Psychologie, Pädagogik, Arbeits-, Sport- sowie Ernährungswissenschaften. Sie alle sollen in Zusammenarbeit zur Senkung der Gesundheitsbelastung und Stärkung von Gesundheitsressourcen beitragen. Im Rahmen dieser gemeinsamen Ausrichtung werden epidemiologisch Risikostrukturen und Ursachen von Krankheiten erfasst und eine mögliche Präventionsstrategie erarbeitet [Rosenbrock R., 2001].

2.5 Public Health Nutrition

Dieses Teilgebiet der Ernährungswissenschaft versteht sich als Forschungsbereich, der sich mit der Gesunderhaltung des Menschen durch die richtige Ernährung beschäftigt. Gesundheitsförderung und Prävention von ernährungsabhängigen Krankheiten werden hier mit politischen, wirtschaftlichen und sozialen Komponenten verknüpft. Die Public Health Nutrition legt den Schwerpunkt auf die Zusammenarbeit von öffentlichen Einrichtungen mit den politischen Entscheidungsträgern. Durch öffentliche Kampagnen sollen landesweite Ernährungsempfehlungen vermittelt werden und Bereiche wie Lebensmittelindustrie, Handel und Bildung zur Zusammenarbeit motiviert werden. So hat es der Europäische Rat im Artikel 152 des Vertrags von Amsterdam, der 1997 im Vertrag von Maastricht ergänzt wurde, festgelegt. Die Bedeutung einer gesünderen Ernährung, von mehr Bewegung, sowie einer gesünderen Lebensweise soll vermittelt werden. Die WPHNA (World Public Health Nutrition Association) wurde 2007 gegründet und bietet eine weltweite Informationsmöglichkeit und Erfahrungsaustausch für Experten [Elmadfa I. et al, 2008].

3 Biomarker

Biologische Marker (Biomarker) sind Substanzen, die als Indikator für den Gesundheits- oder Krankheitszustand eines Menschen herangezogen werden können. Klassische Biomarker sind z.B. das Blutbild, die Urinzusammensetzung oder andere im Körper messbare Substanzen. Von der Medizin werden Biomarker bereits seit längerem genutzt, um Krankheiten so früh als möglich zu erkennen, bzw. diese zu verhindern, sowie die Anwendung der nötigen Medikamente zu unterstützen. Die Einteilung in qualitative (ist ein Marker vorhanden) sowie in quantitative (in welcher Konzentration kommt er vor) Biomarker, erscheint für analytische Zwecke sinnvoll zu sein [Bracht K, 25.01.2012].

Sofern sich ein Biomarker als Surrogat-Parameter eignet, kann er als Indikator des Therapieverlaufs verwendet werden. Der Marker unterscheidet sich grundlegend vom klinischen Endpunkt, beeinflusst jedoch diesen trotzdem mit. Obwohl Biomarker für die Kontrolle des Behandlungsverlaufs nützlich sind, können Therapieerfolge nur durch den klinischen Endpunkt festgestellt werden [Schmitz, Endres, Götte, 2008].

Therapeutic class	Biomarker/surrogate	Clinical endpoint
Physiologic markers		
Antihypertensive drugs	↓ Blood pressure	↓ Stroke
Drugs for glaucoma	↓ Intraocular pressure	Preservation of vision
Drugs for osteoporosis	↑ Bone density	↓ Fracture rate
Antiarrhythmic drugs	↓ Arrhythmias	↑ Survival
Laboratory markers		
Antibiotics	Negative culture	Clinical cure
Antiretroviral drugs	↑ CD4 count, ↓ viral RNA	↑ Survival
Antidiabetic drugs	↓ Blood glucose	↓ Morbidity
Lipid-lowering drugs	↓ Cholesterol	↓ Coronary artery disease
Drugs for prostate cancer	↓ Prostate-specific antigen	Tumor response

Abbildung 2: Beispiele für Surrogatmarker und klinische Endpunkte [Lesko LJ und Atkinson AR, 2001].

3.1 Ernährungsbezogene Biomarker

Die Ernährungsepidemiologie beschäftigt sich mit der Erhebung des Ernährungsstatus. Dafür werden bestimmte Parameter herangezogen wie z.B. die Nahrungs- und Nährstoffaufnahme, die Beurteilung ausgewählter anthropometrischer Größen, die Nährstoffkonzentration, der Nährstofftransport oder seine Metabolite sowie die Messung der Enzymaktivität [Elmadfa I., 2004]. Durch falsche Lebensmittelmengenangaben bei Ernährungserhebungen kann es hier leicht zu falschen statistischen Ergebnissen kommen. Deshalb wurden ernährungsrelevante Biomarker definiert, um diese Fehler zu vermeiden [Freedman L. S. et al, 2010]. Die moderne Epidemiologie versucht Ernährung, Lifestyle, Genetik und das bestehende Krankheitsrisiko miteinander zu verknüpfen. Die ernährungsbezogenen Biomarker sind somit unter anderem auch Instrumente um Ernährungsangaben und den Ernährungsstatus zu kontrollieren [Jenab M. et al, 2009]. Eingeteilt werden die Biomarker nach ihrer Funktion, je nachdem ob sie Hinweise auf das Abbauverhalten oder auf die Konzentration bestimmter Stoffe liefern. Somit kann bei bekannter Abbaurate bestimmter Stoffwechselprodukte ein direkter Zusammenhang zwischen ihrer Zufuhr und ihrer Metaboliten gemessen werden. Beispielsweise erlaubt der im 24-h-Urin gemessene Stickstoffgehalt Rückschlüsse auf die zuvor erfolgte Proteinaufnahme. Nach diesem Prinzip lässt sich die Konzentration eines bestimmten Substrats im biologischen Material wie Plasma oder Urin messen [Puiggròs F. et al, 2011]. Der Carotinoidgehalt im Blutserum weist darauf hin, dass eine Aufnahme von Carotinoiden über die Nahrung letztlich dessen Konzentration im Körper beeinflusst. Aussagen über ihre metabolischen Prozesse im Organismus lassen sich daraus jedoch nicht ableiten. Hinzu kommt, dass außer den ernährungsspezifischen Unterschieden weitere Parameter einen Einfluss auf den Carotinoidgehalt im Serum ausüben. Dazu zählen vor allem inter-individuelle Unterschiede wie Absorption, Verwertung, Speicherfähigkeit und Exkretion [Freedman L. S. et al, 2010].

3.2 Anforderungen an einen Ernährungsbiomarker

Beim Einsatz von ernährungsspezifischen Biomarkern sollten im Hinblick auf möglichst repräsentative und belastbare Ergebnisse vor allem folgende Bedingungen erfüllt werden [Puiggròs F. et al, 2011; Ross AB, 2011]:

1. Für die Kontrolle der zugeführten Menge sollte der Marker über einen längeren Zeitraum im Körper nachweisbar sein (Pharmakokinetik)
2. Fehler durch den Einfluss von subjektiven Daten (z.B. Selbsteinschätzung des Probanden) sind möglichst zu vermeiden
3. Es sollten Fehler, die durch eine schlechte Compliance auftauchen, ausgemerzt werden
4. Weiters sollten quantitative und qualitative Analysen unter Einsatz von modernen, aussagekräftigen Methoden möglich sein (z.B. HPLC-MS, GC-MS/MS usw.)
5. Darüber hinaus darf der Biomarker nicht in anderen Lebensmitteln enthalten sein damit es zu keinen Verfälschungen der Ergebnisse kommt.
6. Durch Lebensmitteltechnologische Verarbeitung soll es zu keiner störenden Matrixveränderung kommen.
7. In weiterer Folge sollten die Parameter Absorption, Metabolismus sowie die Ausscheidung des Biomarkers in einer gut messbaren Größenordnung vorliegen

3.3 Einflussfaktoren von Ernährungsbiomarkern

[Jenab M. et al, 2009]

3.3.1 Genetische Variabilität

- Gene, die die Nahrungsaufnahme beeinflussen können, z.B.
Geschmacksempfindung, Vorlieben für bestimmte Lebensmittel oder Zutaten
etc.
- Biologische Schwankungsbreite der Nährstoffaufnahme, Stoffwechsel,
Gewebeumsatzrate, Ausscheidung
- Epigenetische Variation, Gen-Gen-Interaktionen

3.3.2 Lifestyle und physiologische Faktoren

- Rauchen, Alkoholkonsum, Bewegung, Geschlecht, Alter, Körpergewicht/Größe,
sozioökonomischer Status
- Einfluss der Darmmikroflora (Biokonversion, Freisetzung biologisch aktiver
Verbindungen)
- Enterohepatische Zirkulation der Nährstoffe (z.B. Phytoöstrogene, Lignane...)
- Stoffwechselerkrankungen, Entzündungen, Stress, okkulte/Grunderkrankungen

3.3.3 Ernährungsabhängige Faktoren

- Verzehrshäufigkeit bestimmter Nährstoffe
- Interaktionen zwischen Nährstoffen
- Bioverfügbarkeit von Nährstoffen
- Einfluss der Lebensmittelmatrix

3.3.4 Probenmaterial

- Art der Proben für die Analyse des Biomarkers (z.B. Vollblut, Plasma, Serum, Urin)
- Bedingungen der Probenentnahme, Transport, Lagerung, Dauer der Lagerung
- Zirkadianer Rhythmus, Wochentag, Jahreszeit der Probenahme

3.3.5 Analysemethoden

- Präzision, Genauigkeit, Nachweisgrenzen der analytischen Techniken
- Unterschiede der Methoden oder laborspezifische Unterschiede in der Analytik

3.4 Beispiele für Ernährungsbiomarker

3.4.1 Vitamin C

Der Ascorbat- und Dihydroascorbatgehalt im Blut ist ein Surrogatmarker für die Vitamin C Aufnahme über die Nahrung. Im Allgemeinen gilt Vitamin C als ein gut verwendbarer Biomarker. Analog zu vielen anderen Nährstoffen, ist seine Absorptionsrate nicht mit der Aufnahmemenge gleichzusetzen. Bestimmte Faktoren, wie Rauchen, chronische Entzündungen oder das Alter beeinflussen die Absorption. Zudem hat die genetische Variabilität einen Einfluss auf die Kinetik der Vitamin C-Absorption. Im Zuge der EPIC-Studie konnte gezeigt werden, dass eine hohe Konzentration an Plasma-Vitamin C, unabhängig von der tatsächlichen Aufnahmemenge durch die Nahrung, das Risiko an Magenkrebs zu erkranken senken kann. [Jenab M. et al, 2009]

3.4.2 Carotinoide

Tatsächlich kommen über hundert verschiedene Carotinoide in Pflanzen vor. Jedoch können nur wenige davon in signifikanten Mengen im Blut nachgewiesen werden. Meist handelt es sich hierbei um α -Carotin, β -Carotin, β -Cryptoxanthin, Canthaxanthin, Lycopin, Lutein und Zeaxanthin. Die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden hängt sehr stark von verschiedenen Faktoren wie der Fettaufnahme durch die Nahrung, der Lebensmittelmatrix, dem Grad der Fermentation im Darm, von hormonellen Faktoren sowie der genetischen Variabilität ab [Jenab M. et al, 2009]. Die Carotinoid-Konzentration im Plasma ist bei adipösen Personen, Rauchern und durch Alkoholkonsum verringert. Mit ^{13}C oder ^{14}C unter dem Einsatz von isotoopenmarkierten Komponenten mit analytischen Methoden kann festgestellt werden, ob es sich um neu aufgenommenen Nährstoffe oder um endogene, im Körper entstandene, Nährstoffe handelt. Somit können Nährstoffe der Lebensmittelmatrix markiert werden. Da die Absorption von reinem Carotinoid besser ist als aus Nahrungsmitteln, erleichtert die Isotoopenmarkierung die Untersuchung der Beziehung zwischen Absorption und Metabolismus von Carotinoiden. Der Plasmaspiegel von Retinol wird durch die Leber gesteuert, dies macht es schwierig zwischen neu aufgenommenen unmarkiertem Vitamin A oder Provitamin A zu unterscheiden. Die Markierung ist somit ein hilfreiches Instrument um die tatsächliche Retinolaufnahme zu kontrollieren [Puiggròs F. et al, 2011].

3.4.3 Biomarker von Fleisch und Fleischprodukten

In der Krebsforschung sind Biomarker für Fleisch von großer Bedeutung, da ein hoher Fleischkonsum mit einem erhöhtem Krebsrisiko in Verbindung gebracht wird (World Cancer Research Fund 2007). Desweiteren ist Fleisch als Proteinquelle aus gesundheitlicher Sicht von Interesse. Die Ermittlung von Verzehrdaten gestaltet sich jedoch schwierig, da die Angaben bezüglich der Fleischsorte (rotes oder weißes Fleisch) bzw. Verarbeitungsmethoden unzureichend sind [Dragsted Lars O., 2009]. Frühe

Biomarker für die Feststellung des Fleischkonsums waren 3-Methyl-histidin oder Kreatinin. Neuere Metabonomik-Studien haben eine Vielzahl an Metaboliten, inklusive Kreatin, Carnitin und Trimethylamin-N-oxid als Biomarker für Fleisch identifiziert [Jenab M. et al, 2009]. Holmes et al, erkannten erstmals Unterschiede im Metabonomic-Muster von Fleischprotein zu pflanzlichem Protein [Holmes et al, 2008].

3.5 Einteilung der Ernährungsbiomarker

3.5.1 Krankheitsbezogene Biomarker

Bereits ab den 90er Jahren erfolgte die Entwicklung von Markern für die Diagnose und Prognostik von Krebs, Adipositas, oxidativer Schäden, Diabetes, Kardiovaskulärer Erkrankungen und Neurodegenerationen. Metaboliten wie Cholesterol, Kalzium, Homocystein sowie Proteine bzw. komplexe Substanzen wie LDL oder HDL-Partikel aber auch physikalische Messwerte (z.B. Blutdruck), sind schon lange als klinische Biomarker in Verwendung. Weiters bieten genombasierte Technologien (SNP's, Transkriptome) zusätzliche Instrumente, um Ernährungsbiomarker zur Erkennung von Krankheiten einzusetzen [Van Ommen B. et al, 2009].

3.5.2 Gesundheitsbezogene Biomarker

Ein gesundheitsbezogener Biomarker sollte schon die geringsten Anzeichen einer Erkrankung aufzeigen. Idealerweise sollen Prädispositionen zu bestimmten Krankheiten, Einflussfaktoren wie Umwelt, Ernährung sowie altersbezogener oxidativer Stress identifiziert werden. Mit der Entwicklung der Nutrigenomik werden somit neue Biomarker entwickelt, die durch die Verwendung von Metaboliten, Proteinen und Transkriptomen eine genauere gesundheitsbezogene Diagnostik ermöglichen [Van Ommen B. et al, 2009].

4 Nutrigenomische Grundlagen

4.1 Die „Omics“-Forschung

Der Forschungszweig der Nutrigenomik benötigt als Grundlage die sogenannte Omics-Kaskade bestehend aus Genom, Transkriptom, Proteom, Metabolom und Phänotyp. Viele Erkrankungen des Menschen können auf monogenetische Erkrankungen zurückgeführt werden. Die Galaktosämie und die Phenylketonurie sind nur zwei Beispiele von Stoffwechselerkrankungen, wo einzelne Gene betroffen sind. Beide Defekte sind leicht zu identifizieren und durch eine Ernährungsumstellung steht eine entsprechende Behandlung zur Verfügung [Kussmann M. et al, 2006]. Andere chronische Erkrankungen wie Adipositas, Diabetes, Kardiovaskuläre Erkrankungen oder Krebs sind komplexen Ursprungs und unterliegen Interaktionen von Genen und äußeren Umwelteinflüssen [Kaput und Rodriguez, 2004]. Des weiteren führen frühe Einflüsse wie prä-, peri- und postnatale Ernährung zu einer lebenslangen metabolischen Prägung [Chavez und Munoz, 2003]. Die Betrachtungsweise der Nutrigenomik lässt sich also wie folgt zusammenfassen:

- Nahrungskomponenten beeinflussen die Genexpression
- Ernährung kann ein Risikofaktor für Erkrankungen sein
- das Auftreten und der Verlauf chronischer, ernährungsrelevanter Erkrankungen kann genetischen Ursprungs sein
- der Grad des Ernährungseinflusses für die Balance zwischen Gesundheit und Krankheit ist möglicherweise abhängig vom individuellen genetischen Muster

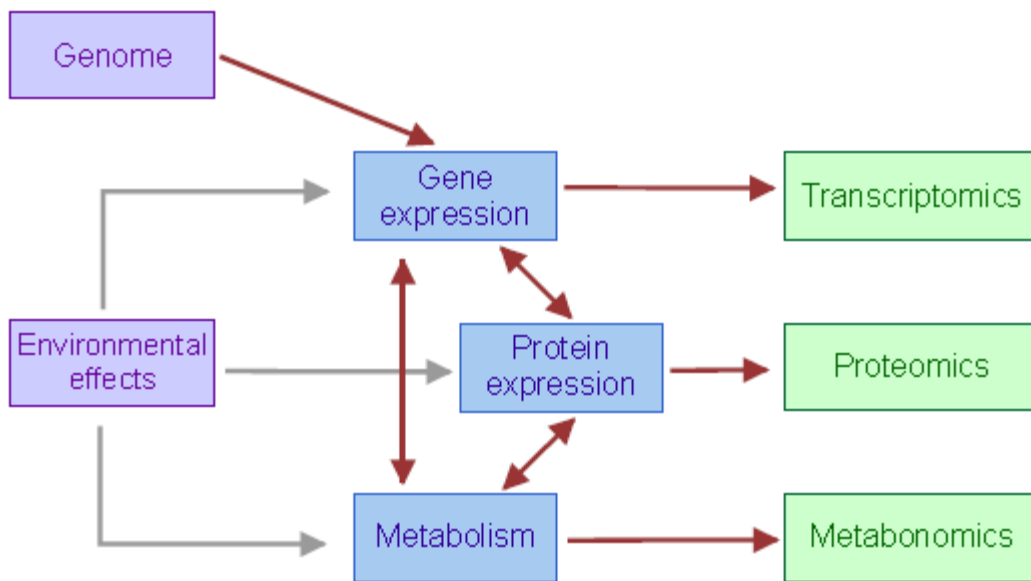


Abbildung 3: Umwelt- und genetischer Einfluss auf Expression und Metabolismus. [Nicholson JK et al, 1999]

Eine Ernährungsumstellung in Kombination mit individuellen Bedürfnissen, Ernährungsstatus und genotypischen Mustern kann chronische Erkrankungen verhindern oder abschwächen [Kusmann M. et al, 2006]. Kürzlich wurde erstmals der Begriff „Foodomic“ formuliert. Die Foodomic beschäftigt sich mit den neuesten Fortschritten im Bereich Lebensmittel, Analytik und Bioinformatik. Diese Disziplin vereint somit alle Omics-Bereiche, wie Nutrigenomik, Nutrigenetik, Proteomik und Metabolomik. Foodomic-Analysen sind heutzutage so gut entwickelt, dass auch das metabolische Profil von niedermolekularen Verbindungen (<1500 Da) charakterisiert werden kann [Puiggròs F. et al, 2011].

In weiterer Folge ist es zunehmend wichtiger, die Zusammenhänge zwischen Ernährung und Krankheit sowie zwischen Ernährung und Gesundheit zu verstehen bzw. die ermittelten experimentellen Daten in die Praxis zu übersetzen. Anhand dieser Erkenntnisse soll eine personalisierte oder individuelle Ernährung erzielt werden. Wie bereits erwähnt, ist die individuelle biochemische Diversität eines Menschen stark abhängig von der genetischen Variation, Umwelteinflüssen und

Ernährungsgewohnheiten, gekoppelt an Kultur und Lifestyle. Dadurch kommt es bei verschiedenen Individuen zu unterschiedlichen Reaktionen auf bestimmte Lebensmittel [Zhang X et al,2007]. Beispielsweise rufen Rote Rüben nur bei manchen Menschen eine Rotfärbung des Urins hervor und auch der Spargel bewirkt nicht bei allen Personen einen übelriechenden Urin [Mitchel SC, 2001]. Die Ernährungsforschung muss deshalb omics-Technologien, systembiologische Ansätze und die Reaktion des Einzelnen auf verschiedene Lebensmittel kombinieren, um die Möglichkeit einer personalisierten Ernährung zu schaffen [Zhang X et al,2007].

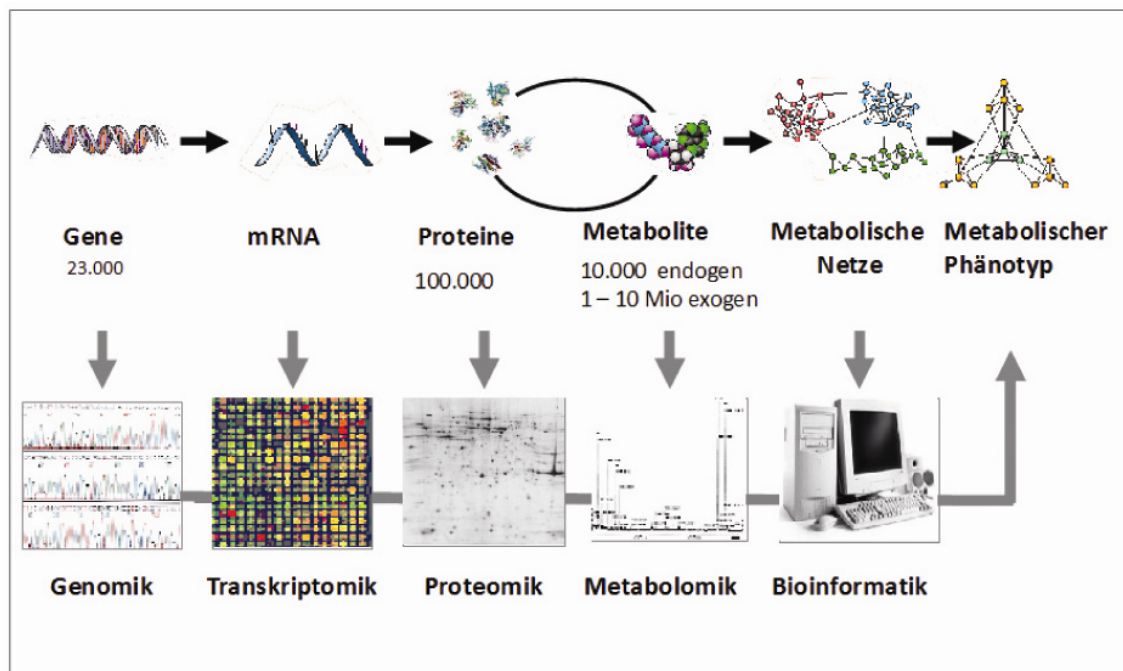


Abbildung: Die „Omics-Techniken“ (Daniel H., Ulla K., JEM 2011)

4.1.1 Nutrigenetik und Nutrigenomik

Die Nutrigenetik beschäftigt sich mit der individuellen genetischen Disposition eines Menschen. Ausgedrückt als single nucleotide polymorphisms (SNPs), copy-number polymorphisms (CNPs) und epigenetische Phänomene, beeinflussen sie zum Beispiel die Absorption der Nahrung. Die Nutrigenomik befasst sich mit dem Zusammenhang zwischen Ernährung, Gentranskription, Proteinexpression und Proteinmetabolismus. Die kurzfristige Aufgabe der Nutrigenomik ist es, Genome (genetische Analysen),

Transkriptome (genetische Expressionsanalysen), Proteome (umfassende Proteinanalysen) und Metabonome bzw. Metabolome (Metabolitmuster) zu integrieren, um einen gesunden Phänotypen zu definieren. Langfristig soll damit eine personalisierte Ernährung entwickelt werden, um die Gesundheit aufrechtzuerhalten und um Krankheiten zu vermeiden [Kusmann M. et al, 2006]. Ein Beispiel der Nutrigenetik ist die antioxidative Wirkung einer Vitamin E-Supplementation für die Prävention von kardiovaskulären Erkrankungen. Mehrere placebokontrollierte, randomisierte Studien konnten bisher keine zufriedenstellenden Ergebnisse bezüglich des positiven Nutzen einer Vitamin-E-Supplementation zur Senkung des kardiovaskulären Erkrankungsrisikos liefern [Wittwer et al, 2010]. Eine Metaanalyse von Miller et al zeigte erstmals, dass hohe Dosen von Vitamin E die Mortalitätsrate senken [Miller et al, 2005]. Blum et al bewiesen mit zwei placebokontrollierten Studien (ICARE und HOPE), dass Haptoglobin 2-2 Typen von einer Vitamin E-Supplementation profitieren und das Risiko eines Schlaganfalls oder eines kardiovaskulären Todes um 40% gesenkt werden kann [Blum et al, 2010].

4.1.2 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)

SNPs sind Variationen von Basenpaaren die mit einer Häufigkeit von mehr als 1% in der Bevölkerung vorkommen. Sie stellen 90% aller menschlichen genetischen Variationen dar. SNPs Genotypisierung unterliegt ständiger Entwicklung und das Angebot einer geeigneten Methode für die Nutrigenetik hängt von der Forschungsfrage und vom Studienmaterial ab. Eine typische Methode in epidemiologischen Studien ist die fluoreszenzbasierte Detektion. In Ernährungsstudien findet die enzymatische Teilung mittels RFLP (Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus) Verwendung.[Wittwer J. et al, 2010]

4.1.3 Transkriptomik

Die Aufgabe der Transkriptomik ist es, die mRNA von Genen zu analysieren. Durch einige Studien konnte gezeigt werden, dass bestimmte Nahrungsbestandteile einen Einfluss auf verschiedene im Körper vorkommende Transkriptome (Summe aller RNA-Moleküle einer Zelle) haben. Auch verschiedene Krankheiten wie Krebs und Diabetes, aber auch Übergewicht, können Veränderungen im Transkriptom hervorrufen. Da sich das Transkriptom-Muster eines einzelnen Menschen nur geringfügig ändert, können mittels Transkriptomik individuelle Einflüsse durch die Nahrung und auch Krankheiten erkannt werden. [Daniel H., Klein U. 2011]

4.1.4 Proteomik

Ein Proteom ist die Gesamtheit aller Proteine zu einer bestimmten Zeit unter bestimmten Bedingungen. Es ist dynamisch und variiert anhand des Zelltypes und anhand der Funktion. In der Nutrigenomik zeigt das Proteom einen momentanen Ausschnitt der Auswirkungen von spezifischen bioaktiven Nährstoffen und der Ernährung eines bestimmten Organismus, von Gewebe oder Zellen. [Garcia-Canas V. et al, 2009]

4.1.5 Metabolomik

Unter Metabolomik versteht man die „quantitative Bestimmung des zeitlich veränderlichen Metabolitenmusters eines Organismus als Reaktion auf pathophysiologische Veränderungen oder genetische Modifikationen“ [Nicholson et al, 1999]. Die Forschung und Analyse von Metaboliten ist ein wichtiges Instrument zur individuellen metabolischen Klassifizierung eines Menschen. Verwendung findet dabei hauptsächlich die quantitative, nicht-invasive Analyse von Körperflüssigkeiten wie, Blut, Urin, Tränenflüssigkeit und Speichel [Kusmann M. et al, 2006]. Weiters werden Zellmaterial und Gewebe ebenfalls zur Analyse verwendet. Mittels NMR und MS

können mittlerweile viele hundert Metaboliten in einem einzigen Sample analysiert werden [Wittwer J. et al, 2010]. Deswegen spielen in der Ernährungsforschung diese Parameter ebenfalls eine wichtige Rolle. Die Metabolomikforschung beruht auf einem drei-Säulen-Modell, bestehend aus der Objektanalyse, dem metabolischen Profil und dem metabolischen Fingerabdruck.

- Die Objektanalyse beschreibt das quantitative Maß von ausgewählten Analyten, wie z.B. eines bestimmten Biomarkers oder eines Reaktionsprodukts.
- Das metabolische Profil ist nicht objektbezogen und beschäftigt sich mit der Untersuchung einer Gruppe von ähnlichen Metaboliten oder einem spezifischen metabolischen Signalweg. Es bildet ein wichtiges Instrument zur Phänotypisierung, da das metabolische Profil einer Zelle die genaue Beschreibung eines Phänotyps wiedergibt.
- Der metabolische Fingerabdruck hat nicht zur Aufgabe, alle Metaboliten zu identifizieren. Vielmehr werden damit Muster von Metaboliten verglichen, die Änderungen der zellulären Umgebung hervorrufen.

Die Metabolomikforschung hat ein breites Spektrum an Tätigkeitsfeldern. Dazu zählen insbesondere die Erforschung von neuen Biomarkern oder die Identifizierung von metabolischen Veränderungen, hervorgerufen durch Umweltfaktoren. Damit soll eine frühestmögliche Erkennung von Krankheiten erreicht werden. Einer der wichtigsten Aufgaben der Metabolomik im Bereich der Nutrigenomik ist es, den bestmöglichen Nutzen für die Gesundheit zu finden. Bisher bilden die phytochemischen Substanzen die meistuntersuchten Stoffe auf diesem Gebiet. Darunter fällt unter anderem der mögliche gesundheitliche Nutzen von Flavonen bei Herzerkrankungen, bzw. der Stanole für den Cholesterinmetabolismus, sowie der Östrogenanaloga auf Sojabasis zur Krebsprävention [Garcia-Canas V., 2009].

Die Analysemethoden zur Detektion und Quantifikation von Ernährungsbiomarkern in der Metabolomik sind hauptsächlich die GC und LC gekoppelt mit MS. Um Veränderungen im menschlichen Metabolitenmuster nach dem Verzehr von sekundären Pflanzenstoffen zu erkennen werden in neuerer Zeit HNMR und Kapillarelektrophorese-MS eingesetzt. Auch werden hierfür zusätzliche LC-Techniken entwickelt.

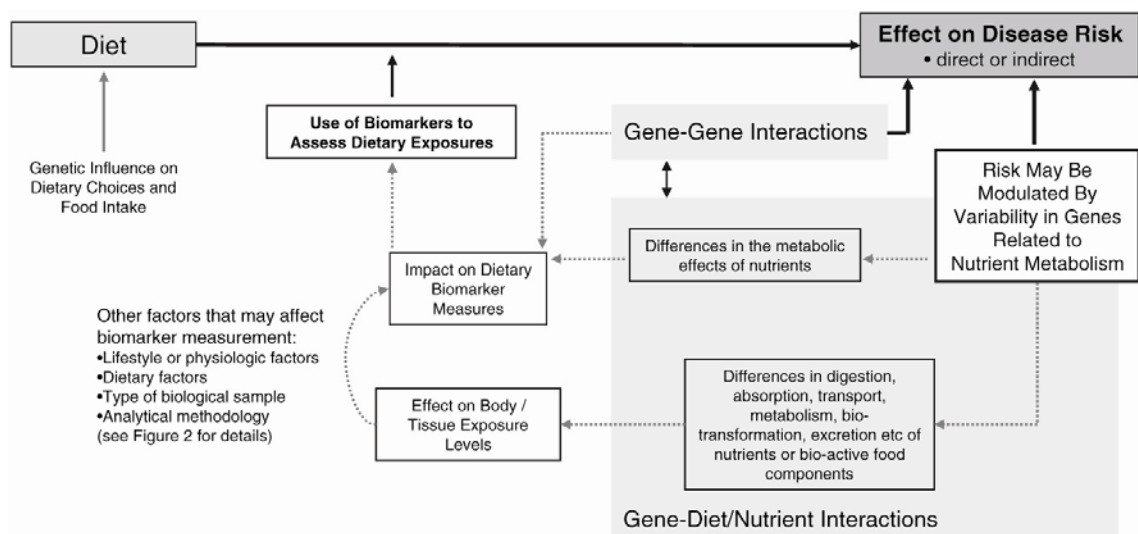


Abbildung 4: Mögliche Interaktionen von Nahrungszufuhr und Ernährungsbiomarkern, gemessen zur genetischen Variabilität und zum Krankheitsrisiko [Jenab M. et al, 2009]

4.2 Die Entwicklung neuer Biomarker mittels Metabolomik

Primerose et al stellten sich die Frage, ob es möglich sei, neue Biomarker zu entwickeln, ohne die Zusammensetzung der Lebensmittel zu kennen. Viele chemische Komponenten in Lebensmitteln werden direkt oder gleich nach der Verdauung absorbiert, unterliegen also einem Umbau im Gastrointestinaltrakt und in der Leber. Viele dieser chemischen Stoffe findet man zuerst im Plasma bzw. nach weiteren Abbaureaktionen sind sie als Metabolite im Urin zu finden. Durch die Untersuchung von Metabolomen soll die kurz- oder langfristige Aufnahme von Lebensmitteln bestimmt werden. Mit potentiell geeigneten Biomarkern sollten unter anderem somit

subjektive Angaben durch Probanden und in Verzehrsstudien fehlerhafte Informationen minimiert werden. Zwei Ansätze zur Biomarker-Identifizierung wurden präsentiert:

„Top-down-Ansatz“: eine gezielte Analyse der Zusammensetzung der Lebensmittel und Auswahl der Probanden. Moleküle die wahrscheinlich im Plasma oder Urin erscheinen sind somit bekannt.

„Bottom-up-Ansatz“: ein ungezielter Ansatz, in dem Freiwillige verschiedene Diäten oder Lebensmittel konsumieren. Unter Verwendung der Metabolomics-Technologien, werden aus Nahrungs-Metabolomen geeignete Biomarker identifiziert. [Primrose S. et al, 2011]

Die **MEDE-Studie** (Metabolomics to characterise Dietary Exposure) zeigte, dass durch ungerichtete bottom-up Ansätze anhand bestimmter chemischer Signale einzelne Nahrungskomponenten charakterisiert werden können. Dabei wurden drei Probandengruppen (MEDE1, MEDE2, MEDE3) ausgewählt. MEDE1 diente dazu, die Nutzbarkeit der Ernährungsprotokolle zu überprüfen. MEDE2 konsumierten über einige Wochen ein Standard-Abendessen und Standard-Frühstück. MEDE3 konsumierten das Standard-Abendessen und erhielten zweimal das Standard-Frühstück oder eine Variation des Standard-Frühstücks. In diesem war eine Komponente durch eine im gesundheitspolitischen Interesse als gesund eingestufte Zutat ersetzt worden.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen: bei der Analyse wurde erkannt, dass das Metabolom-Modell des Plasmas durch die individuelle Zusammensetzung des Blutes bestimmt wird, während in den Urinproben die Metabolom-Inhalte der jüngsten ernährungsbedingten Exposition enthalten sind. Für den metabolomischen Fingerabdruck wurden eine FIE-MS (flow infusion electrospray mass spectrometry) und eine GC-TOF-MS (Gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry) verwendet. Potentielle Biomarker wurden in Orangensaft, Himbeeren, geräucherter Lachs und Brokkoli gefunden. Weiters beeinflussen die Trinkmenge am Abend speziell

die Konzentration der gelösten Stoffe im Urin, allerdings nur geringfügig [Primerose S. et al, 2011].

5 Ballaststoffe

5.1 Definition

Ballaststoffe, auch Pflanzenfasern oder Nahrungsfasern genannt, sind nicht-Stärke-Polysaccharide und Lignin. Sie werden im Dünndarm nicht enzymatisch abgebaut und erreichen somit den Dickdarm [Kasper H., 2004]. Das Institute of Medicine (IOM) definierte Ballaststoffe als „nicht verdauliche Kohlenhydrate und Lignin, die in Pflanzen enthalten sind, einschließlich der pflanzlichen Nichtstärke-Polysaccharide (z.B. Cellulose, Pektin, Hemicellulosen, β -Glucane und Fasern aus Weizenkleie und Haferflocken), pflanzliche Kohlenhydrate, die nicht durch alkoholische Fällung gewonnen wurden (z.B. Inulin, Oligosaccharide und Fructane) und resistente Stärke“ [Kranz S. et al, 2012]. Die aktuelle Definition gemäß der Verordnung des Bundesministers für Gesundheit und Konsumentenschutz über die Nährwertkennzeichnung von Lebensmitteln (NWKV) lautet wie folgt [BGBl. Nr. 896/1995 idgF.]: "Ballaststoffe: Kohlenhydratpolymere mit drei oder mehr Monomereinheiten, die im Dünndarm des Menschen weder verdaut noch absorbiert werden und zu folgenden Kategorien zählen:

- essbare Kohlenhydratpolymere, die in Lebensmitteln, wenn diese verzehrt werden, auf natürliche Weise vorkommen;
- essbare Kohlenhydratpolymere, die auf physikalische, enzymatische oder chemische Weise aus Lebensmittelrohstoffen gewonnen werden und laut allgemein anerkannten wissenschaftlichen Nachweisen eine positive physiologische Wirkung besitzen;

-
- essbare synthetische Kohlenhydratpolymere, die laut allgemein anerkannten wissenschaftlichen Nachweisen eine positive physiologische Wirkung besitzen.

5.2 Funktionelle Ballaststoffe

Unter diesen Begriff fallen essbare Fasern, die zu Lebensmitteln zugegeben werden und einen gesundheitlichen Nutzen haben. Sie umfassen isolierte, unverdauliche Pflanzenstoffe (z.B. resistente Stärke, Pektin), Material tierischen Ursprungs (Chitin und Chitosan) oder kommerziell hergestellte Kohlenhydrate (resistente Stärke, Polydextrine, Inuline, unverdauliche Dextrine). Diese Vielzahl an verschiedenen Fasern, insbesondere die steigende Produktion an in Lebensmitteln zugesetzten Ballaststoffen, macht eine Untersuchung der Ballaststoffzufuhr in der Bevölkerung schwierig [Kranz S. et al, 2012].

5.3 Empfehlungen zur Ballaststoffzufuhr und die Situation in Österreich

Die Richtwerte für die Ballaststoffaufnahme liegen bei 30g/Tag, das sind rund 12,5g/1000kcal bei der Frau und 10g/1000kcal beim Mann [DACH, 2008]. Im Durchschnitt liegt die tägliche Ballaststoffaufnahme aber bei österreichischen Erwachsenen bei 20g/Tag [Elmadfa I. et al, 2008]. Vollkornprodukte sind die beste Ballaststoffquelle, während der Einfluss durch Obst und Gemüse relativ gering ist [Kasper, 2004]. Laut österreichischem Ernährungsbericht werden jedoch nur ca. 16g Vollkornprodukte/d verzehrt (bei einer durchschnittlichen Brotzufuhr von ca. 120g/d) diese Menge liegt weit unter den Empfehlungen, da rund 30% der gesamten täglichen Nahrungszufuhr aus der Lebensmittelgruppe „Getreide, Getreideerzeugnisse und Kartoffeln“ stammen sollte. Ein höherer Verzehr von Vollkornprodukten würde die Ballaststoffzufuhr in Österreich deutlich anheben.

Bei Kindern (Buben und Mädchen) liegt die Empfehlung in den Altersgruppen 7-15jährige bei 2,4g/MJ Ballaststoffe pro Tag. Auch hier liegt in Österreich die Zufuhr deutlich darunter mit 2,2g/MJ. Die Kohlenhydratzufuhr liegt zwar bei 50 Energie%, besteht bei den Kindern aber zu rund einem Drittel aus Saccharose [Elmadfa I. et al, 2008]. Bei Kindern zwischen 3 und 20 Jahren liegt die durch die „American Health Foundation“ empfohlene Zufuhr bei 5g + Lebensalter. (Bei einem 5-jährigem Kind = 10g/d) [Kasper, 2004].

5.4 Die Fiber-Hypothese

Es ist bekannt, dass durch eine verminderte Zufuhr von Ballaststoffen Krankheiten wie Obstipation, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Fettsucht, Hypertonie, DM, rheumatische Erkrankungen usw. auftreten können. In den 70er Jahren wurde daher von Trowell und Burkitt die Fiber-Hypothese aufgestellt. Sie besagt, dass auch bei Menschen in Entwicklungsländern jene Erkrankungen auftreten würden, wenn sie nicht die entsprechende Zufuhr an Ballaststoffen täglich zu sich nehmen würden. Somit wurde eine Beziehung zwischen Ballaststoffverzehr und möglicher Funktionsstörungen und Erkrankungen hergestellt. Da sich seither die Ernährungsweise der Menschen in Afrika und Indien vermehrt zu einer der westlichen vergleichbaren Ernährung orientiert hat und dieselben ernährungsbedingten Krankheiten aufgetreten sind, hält sich die Hypothese bisher weiterhin [Kasper, 2004].

5.5 Eigenschaften der Ballaststoffe

Ballaststoffreichen Lebensmitteln wird ein hohes Volumen und eine hohe Nährstoffdichte zugeschrieben. Der Brennwert (2kcal/g) sowie die Energiedichte sind dagegen gering. Speziell ist ihre hohe Wasserbindungsfähigkeit zu nennen. Weiters können sie unter anderem in wasserlösliche und –unlösliche Ballaststoffe eingeteilt werden.

Lösliche und unlösliche Ballaststoffe: Lignin und Cellulose gehören zu den unlöslichen Ballaststoffen, das heißt sie sind absolut unverdaulich, während lösliche Ballaststoffe wie Johannisbrotkernmehl, Guar, Pektin oder Dextrine im Dickdarm abgebaut werden [Elmadfa I., 2004].

5.6 Ballaststoffe und ihr gesundheitlicher Nutzen

5.6.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften

Das hohe Wasserbindungsvermögen (Quellfähigkeit) führt dazu, dass es zu einer besseren Sättigung kommt und die Magenentleerung später einsetzt. Die schnellere und bessere Sättigung wird auch darauf zurückgeführt, dass faserige Lebensmittel länger gekaut werden [Biesalski K., 2007]. Die Darmperistaltik wird durch die Wasserbindung und das damit erhöhte Volumen erhöht. Im Dickdarm bewirkt dies eine kürzere Transitzeit und kann somit die Wirkungsdauer von Kanzerogenen verkürzen [Elmadfa I., 2004].

5.6.2 Bindung von Gallensäure

Dies bewirkt, dass vermehrt Gallensäure ausgeschieden und dadurch dem enterohepatischen Kreislauf entzogen wird. Da es dadurch zu einer Neusynthese aus Cholesterin kommt, sinkt insgesamt der Blutcholesterinspiegel [Biesalski HK und Grimm P, 2007].

5.6.3 Senkung des Blutglucosespiegels

Ein ständig zu hoher Blutglucosespiegels ist ein Marker für die Reduzierung der Insulinsensitivität und somit ein Risikofaktor für Diabetes. Ballaststoffe bewirken eine

verzögerte Glucoseabsorption, welche speziell bei Diabetikern von großem Nutzen ist [Lairon D. et al, 2005].

5.6.4 Kardiovaskuläre Erkrankungen

Die Einflussfaktoren von Ballaststoffen auf CHD (Coronary Heart Disease) beruhen auf unterschiedlichen Mechanismen, unter anderem auf der Senkung des Blutcholesterols, Senkung des Blutdrucks, Reduktion des abdominalen Fettgewebes, Verbesserung der vaskulären Reaktivität, Verbesserung der Insulin-Sensitivität, Hemmung des postprandialen Anstiegs von Glucose und Triglyzeriden, Verbesserung der fibrinolytischen Aktivität [Eshak ES et al, 2010].

5.6.5 Obstipation

Eine verminderte Zufuhr von Ballaststoffen kann zu chronischer Obstipation führen. Die weltweite Prävalenz an chronischer Obstipation lag im Jahr 2009 zwischen 7 und 30%. In den USA waren bei den Kindern und Jugendlichen mehr als 10% betroffen. In mehreren Studien wurde ein Zusammenhang zwischen einer zu niedrigen Ballaststoffzufuhr und Obstipation bei Kindern gefunden [Kranz S. et al, 2012] Die Diagnose-Kriterien der funktionellen Obstipation werden nach ROME III-Standard eingeteilt [WGO-OMGE, 2010].

5.6.6 Krebsprävention

Kolorektalkrebs ist die dritthäufigste Krebsform bei Frauen und Männern in Amerika und der zweithäufigste Grund an einer Krebserkrankung zu sterben. In epidemiologischen Studien entdeckte man, dass Ballaststoffe das Risiko an Dickdarmkrebs zu erkranken senken können. In Human- und Tierstudien fand man heraus, dass Weizenkleie die einzige Getreidekleie ist, die einen Schutz vor

Dickdarmkrebs bietet und im Gegensatz dazu Hafer- und Maiskleie die Karzinogenese sogar erhöhen können [Zhu Y. et al, 2011]. In einigen Fall-Kontroll-Studien wurde schon auf den gesundheitlichen Nutzen von Ballaststoffen zur Senkung des Magenkrebsrisikos eingegangen. In der **EPIC-EURGAST** Studie wurden, unter anderem, dazu nun 435 000 Personen aus 10 verschiedenen Ländern untersucht. Da bis dato noch keine Untersuchungen vorlagen, wie sich Ballaststoffe aus unterschiedlichen Nahrungsquellen auf non-cardia-Tumore auswirken, wurden in dieser Studie verschiedene Ballaststoffquellen untersucht (Gemüse, Obst, Zerealien). Die Ballaststoffaufnahme beruhte auf länderspezifischen Nährwerttabellen, welche von der Association of Official Analytical Chemists (AOAC) auf die Vergleichbarkeit von Lignin und resistenter Stärke überprüft wurden. Es stellte sich heraus, dass 40% der Ballaststoffzufuhr aus Zerealien stammt. Obst und Gemüse machten auch einen großen Teil der Ballaststoffzufuhr aus. Im Bezug auf Magenkrebs zeigte sich, dass eine hohe Zufuhr von Getreidefasern bzw. Lebensmittel aus Vollkornmehl, das Risiko an Magenkrebs zu erkranken senken kann. Jedoch lässt sich aus der Ballaststoffzufuhr von Obst und Gemüse kein spezieller positiver Nutzen bezüglich der Magenkarzinom-Erkrankungen ableiten [Mendez MA et al,2007].

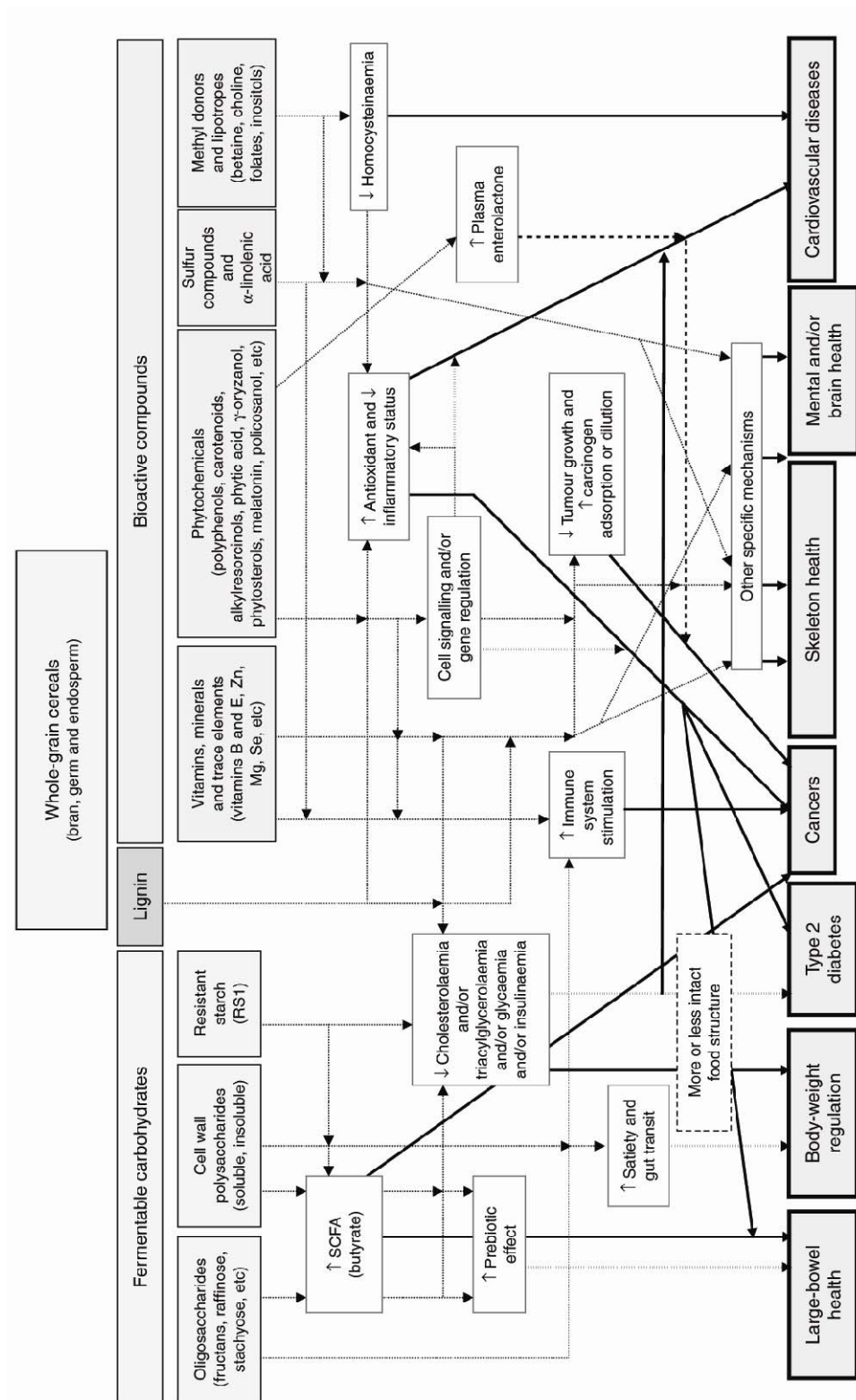


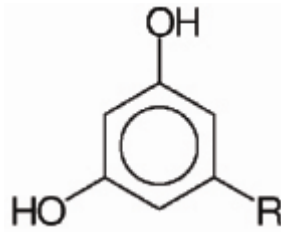
Abbildung 5: Physiologische Funktionen von Vollkorngetreide [Fardet A., 2010]

5.6.7 EPIC-Studie Krebsforschung

Eine der größten Studien, die sich mit dem Thema Krebserkrankungen, aber auch anderen Erkrankungen wie z.B. Diabetes befasst, war die ab 1992 bis zum Jahr 2000 laufende **EPIC-Studie** (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Study). Zehn europäische Länder (Dänemark, Frankreich, Deutschland, Griechenland, Italien, Niederlande, Norwegen, Spanien, Schweden und England) und über 520 000 Teilnehmer sind dabei vertreten. Diese prospektive Kohortenstudie besteht aus mehreren Langzeitstudien, die mit einer Nachbeobachtungszeit von mehreren Jahren versehen wurden. Somit werden diese Studien ständig überarbeitet und aktualisiert. Auch hier kommen Biomarker zum Einsatz oder werden im Zuge der Studien neu konzipiert. Für Diabetes wurden somit Biomarker gefunden, die das Risiko daran zu erkranken, senken, wie ein hoher HDL-Cholesterinspiegel und Adiponektin, als auch ein niedriger HbA1c-Wert und eine niedrige CRP-Konzentration [Heidemann C. et al, 2005]. Dass der Verzehr von Ballaststoffen aus Getreideprodukten das Risiko von Diabetes Mellitus 2, Darmkrebs aber auch kardiovaskulären Erkrankungen senken kann, ist bereits bekannt. Anhand der in der EPIC-Studie untersuchten Genpolymorphismen erkannte man, dass aber nicht bei allen Menschen Vollkornprodukte das DM-Risiko senken. Eine Punktmutation im Gen TCF7L2 trägt dazu bei, ob Vollkornprodukte nun einen Nutzen bezüglich DM2 haben oder nicht. Mehr als 50% der Probanden mit einer CC-Genvariante, konnten von einem täglichen Verzehr von Vollkornprodukten profitieren. Menschen mit einer T-Variante konnten keinen Nutzen daraus ziehen. Jedoch konnte die Senkung des Magenkrebsrisikos durch Ballaststoffe aus Getreide belegt werden [Seebauer W. 2009, WCRF-Report-Zusammenfassung]. Dass Ballaststoffe und Vollkornprodukte einen gesundheitlichen Nutzen haben, wurde bereits in einigen Studien bewiesen. Die Frage ist nun, mit welcher Methode die Ballaststoffzufuhr der Bevölkerung gemessen werden kann, ohne dass es zu Fehlangaben und Verfälschungen kommt. Deshalb wurden von Landberg et al, im Jahr 2008 erstmals Alkylresorcinole zur Analyse herangezogen, die als Biomarker dienen sollten. [Landberg R. et al, 2008]

6 Alkylresorcinole

Alkylresorcinole (AR) sind phenolische Lipide, die sich durch ihre Kohlenhydratkettenlänge an Position 5 des 1,3-Dihydroxybenzenrings unterscheiden. Sie befinden sich in großen Mengen in der äußeren Schicht der Kornschale (Aleuron und Perikarp) von Roggen und Weizen und sind in Weißmehlprodukten praktisch kaum enthalten. In Getreideprodukten findet man hauptsächlich eine Mischung aus Alkylresorcinolen mit Kohlenwasserstoffkettenlängen zwischen C15:0-C27:0 [Linko-Parvinen A-M. et al, 2007]. Bis zu 90-95% der Weizen-AR's haben gesättigte Alkylketten mit einer Länge zwischen 17 und 25 Kohlenstoffatomen. Dabei ist C21:0 die hier am häufigsten vorkommende Struktur. Die Kohlenwasserstoffketten beim Roggen sind dagegen zwischen 15 und 25 C-Atomen lang und das hier vorherrschende Homolog ist C19:0. Geringe Mengen von C27:0 wurden auch in Roggen und Gerste gefunden. 15-20% der in Roggen identifizierten AR's haben ein-, zwei- und dreifach ungesättigte Kohlenwasserstoffketten und auch eine Substitution von Keto- oder Hydroxylgruppen an der Alkylkette kommt vor. Die Doppelbindungen der ungesättigten Alkylresorcinole befinden sich an den Positionen C₈, C₁₁ und C₁₄. [Ross A. B. et al, 2004]. Die Herkunft der AR's in den verschiedenen Getreideprodukten wird über die C17:0/C21:0-Ratio angegeben, wobei typischerweise für Hartweizen eine Ratio von 0,01, für Weizen von 0,1 und für Roggen von 1,0 gilt [Andersson A. et al, 2010]. Anhand der C17:0/C21:0-Ratio im Blutplasma lässt sich zum Beispiel eine Unterscheidung zwischen der Roggen- oder Weizenaufnahme im Menschen feststellen. Diese Eigenschaft ist ein wichtiger Parameter für die Beurteilung einer Substanz als geeigneter Biomarker für die Ballaststoffaufnahme [Landberg R. et al, 2009].



Alkylresorcinol derivative (R)	Structure	Molecular weight (Da)	Isomers (position of double bond)
5-<i>n</i>-Alkylresorcinols			
C17:0	5- <i>n</i> -Heptadecylresorcinol	348	–
C19:0	5- <i>n</i> -Nonadecanylresorcinol	376	–
C21:0	5- <i>n</i> -Heneicosylresorcinol	404	–
C23:0	5- <i>n</i> -Tricosylresorcinol	432	–
C25:0	5- <i>n</i> -Pentacosylresorcinol	460	–
5-Alkenylresorcinols			
C17:1	5-(Heptadecenyl)-resorcinol	346	8Z, 10Z, 12Z
C19:1	5-(Nonadecenyl)-resorcinol	374	10Z, 12Z, 14Z
C21:1	5-(Heneicosenyl)-resorcinol	402	12Z, 14Z, 16Z
C23:1	5-(Tricosenyl)-resorcinol	430	14Z, 16Z, 18Z
C25:1	5-(Pentacosenyl)-resorcinol	458	16Z, 18Z, 20Z
C19:2	5-(Nona-10Z,13Z-decadienyl)-resorcinol	372	–
C21:2	5-(Henei-12Z,15Z-cosadienyl)-resorcinol	400	–
C23:2	5-(Tri-14Z,17Z-cosadienyl)-resorcinol	428	–
C25:2	5-(Penta-16Z,19Z-cosadienyl)-resorcinol	456	–
5-Oxoalkylresorcinols			
C19:Oxo	5-(2-Oxononadecanyl)-resorcinol	390	–
C21:Oxo	5-(2-Oxoheneicosanyl)-resorcinol	418	–
C23:Oxo	5-(2-Oxotricosanyl)-resorcinol	446	–
C25:Oxo	5-(2-Oxopentacosanyl)-resorcinol	474	–
5-Oxoalkenylresorcinols			
C19:1,Oxo	5-(2-Oxononadecenyl)-resorcinol	388	10Z, 12Z, 14Z
C21:1,Oxo	5-(2-Oxoheneicosenyl)-resorcinol	416	12Z, 14Z, 16Z
C23:1,Oxo	5-(2-Oxotricosenyl)-resorcinol	444	14Z, 16Z, 18Z
C25:1,Oxo	5-(2-Oxopentacosenyl)-resorcinol	472	16Z, 18Z, 20Z
C19:2,Oxo	5-(2-Oxo,10Z,13Z-nonadecadienyl)-resorcinol	386	–
C21:2,Oxo	5-(2-Oxo,12Z,15Z-heneicosenyl)-resorcinol	414	–
C23:2,Oxo	5-(2-Oxo,14Z,17Z-tricosadienyl)-resorcinol	442	–
C25:2,Oxo	5-(2-Oxo,16Z,19Z-pentacosadienyl)-resorcinol	470	–
5-Hydroxyalkenylresorcinols			
C19:1,Hydroxy	5-(2-Hydroxynonadecenyl)-resorcinol	390	10Z, 12Z, 14Z
C21:1,Hydroxy	5-(2-Hydroxyheneicosenyl)-resorcinol	418	12Z, 14Z, 16Z
C21:1,Hydroxy	5-(4-Hydroxyheneicosenyl)-resorcinol	418	12Z, 14Z, 16Z
C23:1,Hydroxy	5-(4-Hydroxytricosenyl)-resorcinol	446	14Z, 16Z, 18Z
C25:1,Hydroxy	5-(4-Hydroxypentacosenyl)-resorcinol	474	16Z, 18Z, 20Z
C21:2,Hydroxy	5-(4-Hydroxy,12Z,15Z-heneicosenyl)-resorcinol	416	–
C23:2,Hydroxy	5-(4-Hydroxy,14Z,17Z-tricosadienyl)-resorcinol	444	–

Abbildung 6: Struktur von 5-*n*-alkyl-, 5-alkenyl-, 5-(oxoalkyl)-, 5-(oxoalkenyl)-, und 5-(hydroxyalkenyl)-resorcinol isoliert aus Weizen und Roggen. [Ross AB et al, 2004]

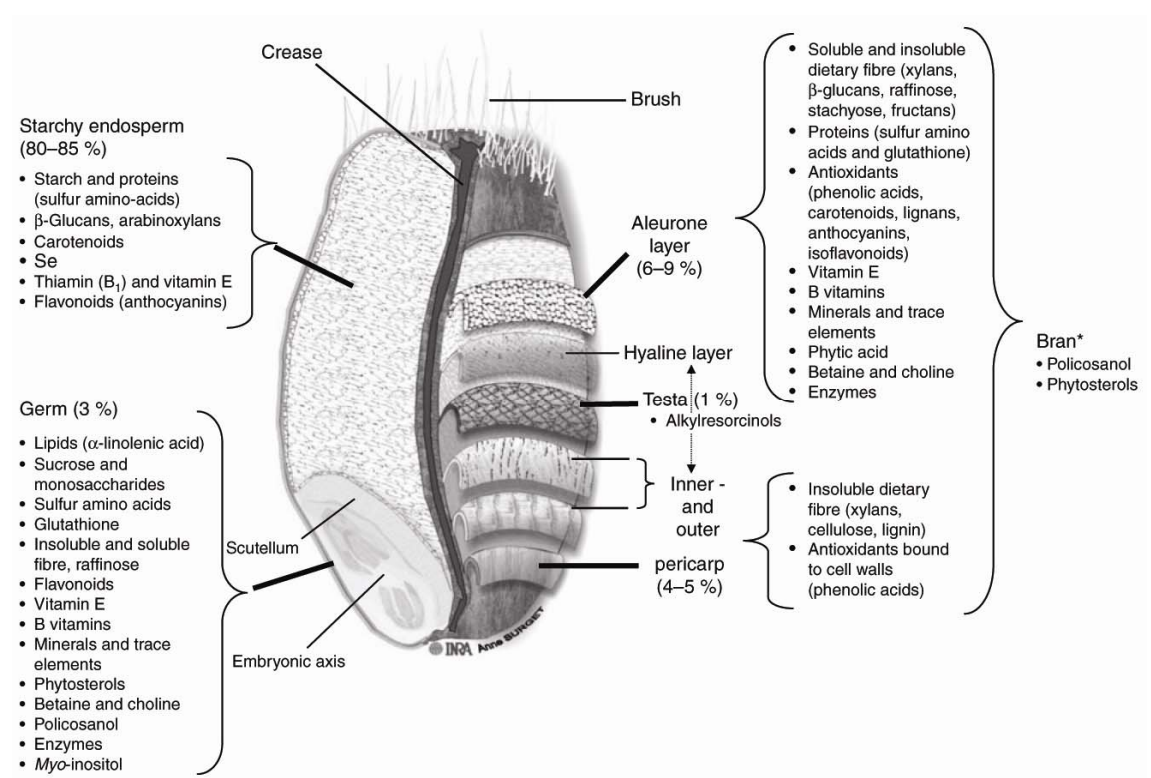


Abbildung 7: Aufbau eines Weizenkorns [Fardet A. 2010]

6.1 Vorkommen in Nahrungsmitteln

Neben dem bereits erwähnten Vorkommen in Vollkornweizen- und Roggenprodukten, wurden weiters geringe Mengen von AR in Gerste (0,04-0,2 g/kg) [Andersson A. et al, 2010], in Mais (C1:0), Reis, Mango (C15:0, C15:1, C15:2, C15:3) sowie vernachlässigbare Mengen in Cashew Nüssen (<5µg/g) gefunden. Auch in grünen Erbsen kommen geringe Mengen vor (0,5-0,15µg/g). Weiters sind AR's (C15:0 und C17:0) in der Fruchtpulpe und im Blätterextrakt von *Ginkgo biloba* L. enthalten, wobei diese nicht als Nahrungsmittel in Verwendung sind [Ross A. B. et al, 2004]. Da sich diese Arbeit aber mit Biomarkern für die Ballaststoffaufnahme aus Getreide beschäftigt, werden hier hauptsächlich Alkylresorocinole aus Weizen und Roggen besprochen. In Roggen ist die höchste Konzentration an AR's enthalten (360-3200 µg/g), gefolgt von Weichweizen (317-1430 µg/g) und Hartweizen (54-1080 µg/g) [Ross A. et al, 2004].

6.2 AR-Metabolite: (DHBA, DHPPA)

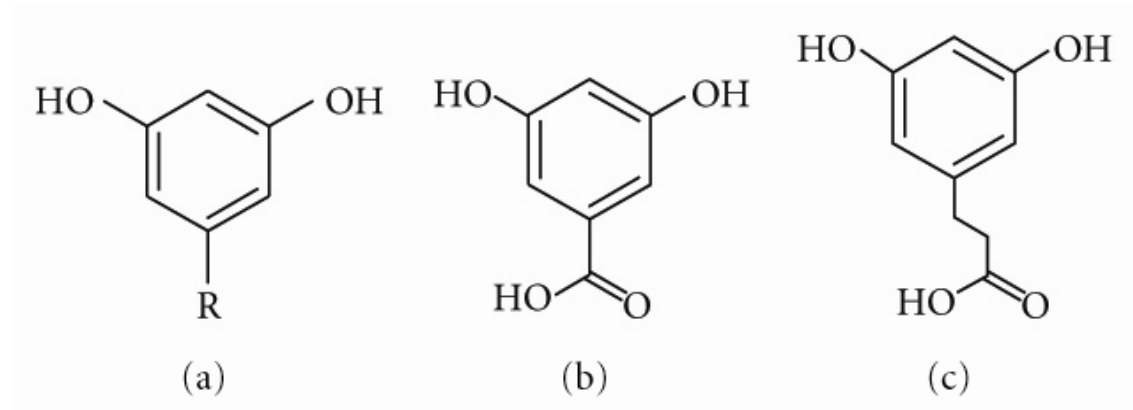


Abbildung 8: (a) Grundstruktur von Alkylresorcinol und die zwei Metabolite in Urin und Plasma (b) 3,5 Dihydroxybenzoesäure (DHBA) (c) 3,5-Dihydroxyphenylpropansäure (DHPPA) [Ross AB, 2012]

Im Rattenmodell konnte auch gezeigt werden, dass Alkylresorcinol-Metabolite im Urin polarer sind als intakte AR's. Ross et al 2004 konnte hiermit nachweisen, dass durch die Strukturgleichheit mit anderen amphiphilen Substanzen wie Tocopherol und 4-n-Nonylphenol auch derselbe Abbauweg existiert. Es erfolgt eine Konjugation der Hydroxyl-Gruppe am Phenolring und nacheinander ein Abbau der Alkylkette durch ω -Oxidation. Durch Umsatz der ω -Hydroxylgruppe zu Carboxylsäure erfolgt daraufhin die β -Oxidation, welche sie wasserlöslich macht. Die zwei Getreide-AR-Metabolite 3,5-Dihydroxybenzoesäure und 3-(3,5-Dihydroxyphenyl)-1-propansäure, nachweisbar in enzymatisch dekonjugiertem menschlichen Urin nach Zufuhr von Vollkornprodukten zeigt, dass die Metabolisierung von AR mittels Konjugation mit Glucuroniden und/oder Sulphat-Gruppen, sowie die Verkürzung der Alkylketten mittels β -Oxidation erfolgt [Bondia-Pons I. et al, 2009].

Da die Möglichkeit Urinproben zu sammeln nicht immer gegeben ist, beschäftigten sich Koskela et al erstmals mit der Identifizierung von DHBA und DHPPA im Plasma [Koskela A. et al, 2008]. Dabei wurde die quantitative Messung nach der gleichen Methode wie im Urin durchgeführt [Koskela A. et al, 2007]. Die Messung erfolgte mit HPLC-CEAD. Die gemessene gesamte AR-Metaboliten-Konzentration korrelierte

signifikant mit der Konzentration im Urin und mit der gesamten Plasma AR-Konzentration (C17:C25). Das Plasma wurde im Unterschied zu Urin hydrolysiert, da 10-30% des DHBA und 60-90% des DHPPA in konjugierter Form vorkommen. Im Urin wurden bisher alle Metabolite in unkonjugierter Form vorgefunden [Koskela A. et al, 2008]. Urin-Metabolite haben gegenüber Plasma-Metaboliten den Vorteil, dass Schwankungen in der Zeit der Nahrungsaufnahme keinen Einfluss auf sie haben [Ross AB, 2011].

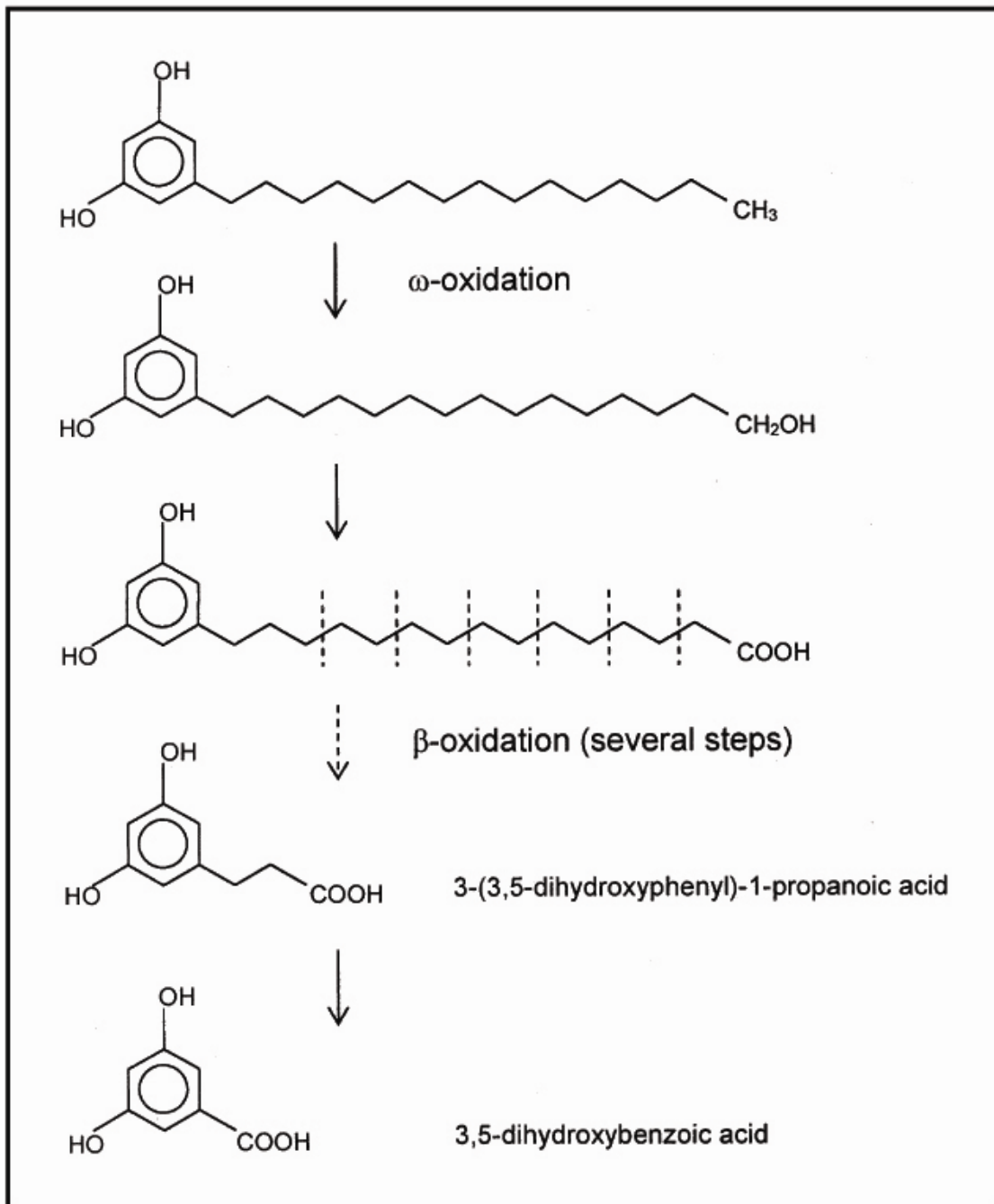


Abbildung 9: Mechanismus des Alkylresorcinol-Metabolismus mit C15:0 als Beispiel
(Ross AB et al, 2004)

6.3 Physiologische Funktionen

6.3.1 Absorption

Die Absorption im Ileum beträgt beim Menschen $\sim 60\%$, wobei die Aufnahme langkettiger AR's (C23:0 und C25:0) geringer ausfällt als die von kurzkettigen AR's [Bondia-Pons I. et al, 2009]. Alkylresorcinole werden absorbiert, in Chylomikronen verpackt und über das lymphatische System zur Leber befördert, um dort in VLDL und HDL aufgenommen zu werden [Linko-Parvinen A. M. et al, 2007]. In Studien mit Ratten wurde radioaktiv markiertes C21:0 gefüttert, welches 10 Stunden lang im Plasma nachgewiesen werden konnte. Nach weiteren 140 Stunden konnte kein C21:0 mehr nachgewiesen werden. Im Urin und Fäzes konnten nach 24 Stunden die ersten Messungen vorgenommen werden. Im Urin der Ratten wurden nur mehr polare Substanzen in Form von Metaboliten von AR's gefunden [Ross A. B. et al, 2004]. Nach einer 2-wöchigen Gabe von Roggen-Vollkorngetreide konnte in einer Studie von Landberg et al, 2009 an Männern mit Prostatakrebs ein Steady-State bei einem regelmäßigen Konsum und einer Halbwertszeit von 45 Stunden erreicht werden. Nach einer 2-wöchigen wash-out Periode konnten noch immer AR-Homologe festgestellt werden. Das heißt, dass AR in verschiedenen Geweben akkumulieren um dann langsam ins Plasma entlassen zu werden [Landberg R et al, 2009].

6.4 Metabolismus

6.4.1 Transport in Lipoproteinen

Der Transport von AR's im Blut erfolgt hauptsächlich in Lipoproteinfractionen und endet in der Erythrocytenmembran. Bei Ratten wurden im Fettgewebe vermehrt AR's gefunden, was darauf schließen lässt, dass AR's genauso wie viele andere lipophile Substanzen im Fettgewebe akkumulieren. Über das hepatische System werden die

AR's metabolisiert und können so über die Nieren ausgeschieden werden [Landberg R. et al, 2009].

Alkylresorcinole sind in allen Lipoprotein-Fraktionen enthalten. Die Menge an AR's in den Lipoprotein-Fraktionen beläuft sich auf 70-80% der Gesamtmenge im Plasma. Die Plasma-AR-Konzentration ist abhängig von der Gesamtcholesterin- und Triacylglycerolkonzentration im Blut. Somit variiert die Konzentration von AR's, gleich wie bei Tocopherolen, mit der Menge an Carrier-Lipoproteinen. Für Cholesterol ist der Hauptcarrier LDL; für AR's sind dies VLDL gefolgt von HDL. HDL kann AR direkt aus den Chylomikronen aufnehmen, während dies bei VLDL durch Lipolyse erfolgt [Linko-Parvinen A. M. et al, 2007].

6.4.2 Antioxidativer Effekt von Alkylresorcinolen

In in-vitro-Studien konnte gezeigt werden, dass Alkylresorcinole einen positiven Effekt in Bezug auf Funktion und Eigenschaften von Biomembranen haben. Sie verhindern die LDL-Oxidation und haben somit einen antioxidativen Effekt auf Zellmembranen [Linko-Parvinen A. M. et al, 2007]. AR's mit langen Alkylseitenketten können die Peroxidation von Fettsäuren und Phospholipiden in liposomalen Membranen durch Eisenionen verhindern. Die Alkylketten aktivieren die Aufnahme in die Zellmembranen während der phenolische 1,3-Dihydroxybenzenring für die antioxidative Kapazität verantwortlich ist [Gliwa J. et al, 2011]. Schon in mikromolaren Konzentrationen sind Roggen-ARs in der Lage, die Lipidmembran der Erythrocyten vor H₂O₂-induzierter Oxidation zu schützen. Eine optimale antioxidative Kapazität ist für C15:0 gegeben und fällt ab je langkettiger die Homologe sind [Bondia-Pons I. et al, 2009]. In einer Studie von Parikka et al, 2006 wurde jedoch bei zwei den folgenden chemischen Methoden eine geringe antioxidative Kapazität von 5-n-ARs festgestellt: FRAP-Assay (ferric reducing antioxidant power) zum Testen der antioxidativen Kapazität und 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl-Assay (DPPH) zur Bestimmung der radikalfangenden Eigenschaften [Parikka et al, 2006]. Die gleichen Verbindungen jedoch zeigten in vitro

eine signifikante Hemmung der LDL-Oxidation durch Kupferionen. Dies wird zurückgeführt auf eine Interaktion von 5-n-ARs mit der biologischen Membran. Eine Limitierung der LDL-Oxidation trägt erheblich zur Prävention von Atherosklerose bei [Bondia-Pons I. et al, 2009].

6.4.3 Antimikrobieller Effekt von AR

Hohe Alkylresorcinol-Konzentrationen (10mg/ml agarmedium) haben eine antimikrobielle und fungizide Wirkung. Die AR's wirken speziell gegen gram-positive Bakterien, haben aber nur eine geringe Wirkung auf gram-negative Bakterien. AR C15:0 hemmt das Wachstum von *Aspergillus parasiticus* und *Penicillium chrysogenum*, welche in Brot vorkommen können [Ross A. B. et al, 2004]. Die Alkylresorcinol-Verbindung 5-Methylresorcin hemmt das Wachstum von *Aspergillus flavus*. Die höchste Wachstumshemmung konnte bei einer Konzentration von 15 oder 20 µg/µl Medium in 96h festgestellt werden. Auch nach 72h kam es bei einer Konzentration von 10, 15 oder 20µg/µl schon zu einer Wachstumshemmung [Gembel SV et al, 2001].

6.4.4 Einfluss auf den Vitamin-E-Status

Im Rattenmodell konnte mittels einer Supplementation von Alkylresorcinolen die γ-Tocopherolkonzentrationen in Leber- und Lungengewebe erhöht werden. Dies erfolgt wahrscheinlich über eine (reversible) kompetitive Hemmung der Tocopherol-ω-Hydroxylase (ein Cytochrom P450-Enzym). Jedoch konnte keine Erhöhung des α-Tocopherolspiegel festgestellt werden. Durch die Strukturähnlichkeit der Seitenketten von Vitamin E und AR kommt es hier zu einer Inhibition, wobei Alkylresorcinole die Bildung von CEHC-Metaboliten (2,5,7,8-Tetramethyl-2-(2'-carboxyethyl)-6-hydroxy-chroman) vermindern. Die CEHC-Metabolite, die über den Urin ausgeschieden werden, entstehen beim Abbau von Tocopherol. Beim Menschen konnte diese Vermutung durch die Identifizierung der beiden AR-Metabolite im Urin (DHBA, DHPPA) die, wie bereits erwähnt, durch β-Oxidation entstanden sind, bestätigt werden [Frank J. 2005].

6.4.5 Interaktion mit Enzymen

Aufgrund ihres hydrophoben Charakters, können manche Proteine an AR binden. Albumin wird dadurch aufgrund seiner vielen hydrophoben Regionen durch AR in seinen Eigenschaften beeinflusst. Bei Trypsin wird durch die Bindung an AR dessen Proteaseaktivität herabgesetzt. Die Fähigkeit der AR-Monolayer zur Proteinaufnahme ist größer als die von Phospholipiden [Ross A. B. et al, 2004]. In einer Studie von Kubo I. et al, konnte gezeigt werden, dass ARs aus Cashewnuss-Schalen eine kompetitive Hemmung der Tyrosinase in Pilzen bewirkt (die Tyrosinase katalysiert die Oxidation von Phenolen). Je mehr Doppelbindungen in der Alkylkette vorhanden sind, desto stärker ist dieser Effekt [Kubo I. et al, 1994]. Auch die Fähigkeit der inhibitorischen Aktivität gegen Verdauungsenzyme, wie z.B. die α -Glucosidase und Aldosereduktase, besteht. Je ungesättigter die Alkylketten sind, desto größer ist die Enzyminhibition. Dies bewirkt eine erniedrigte Verdauungsaktivität nach dem Verzehr von Vollkornweizen oder Roggen [Ross A. B. et al, 2004].

6.5 Resorcinole und Sphingomyelin-Cholesterol-Liposomen

Liposomen aus Sphingomyelin (SM) und Cholesterol (Chol) sind sehr widerstandsfähig gegen die Destabilisierung durch Lipoproteinlipasen. Sie zirkulieren relativ lange im Blut und durch das Einkapseln von Medikamenten wie Antibiotika oder Zytostatika in SM:Chol-Liposomen erhöht sich die Wirkungsdauer dieser Medikamente. Alkylresorcinole zeigen wegen ihrer amphiphilen Eigenschaften eine hohe Affinität zu Lipiddoppelschichten und zu Biomembranen. In einem Gefrier-Tau-Verfahren konnten Liposomen aus Phosphatidylcholin und Alkylresorcinol (PC:AR) oder dem synthetischen Myristol-Sulfonyl-Derivat des Alkylresorcinols (PC:MSAR) hergestellt werden. Diese Liposomen haben eine einschichtige Struktur, eine Größe von 200nm und ein großes inneres Volumen und sie sind stabiler als PC:Chol-Vesikel. Durch die Kombination von Sphingomyelin (SM) aus Hühnereigelb, Cholesterol und Alkylresorcinol-Liposomen

(SM:Chol:AR oder SM:Chol:MSAR) konnten die positiven Effekte noch verbessert werden. Die Größe bleibt stabil und das Ausströmen von Calcein aus den Vesikeln wird verhindert (die physikalische Stabilität der Liposomen wird durch eine Größenveränderung und mittels Carboxyfluorescein gemessen). Auch erfolgt die Elimination aus dem Blutkreislauf langsamer, was einen positiven Effekt auf den Wirkungsgrad von Medikamenten hat [Zant-Przeworska E. et al, 2010].

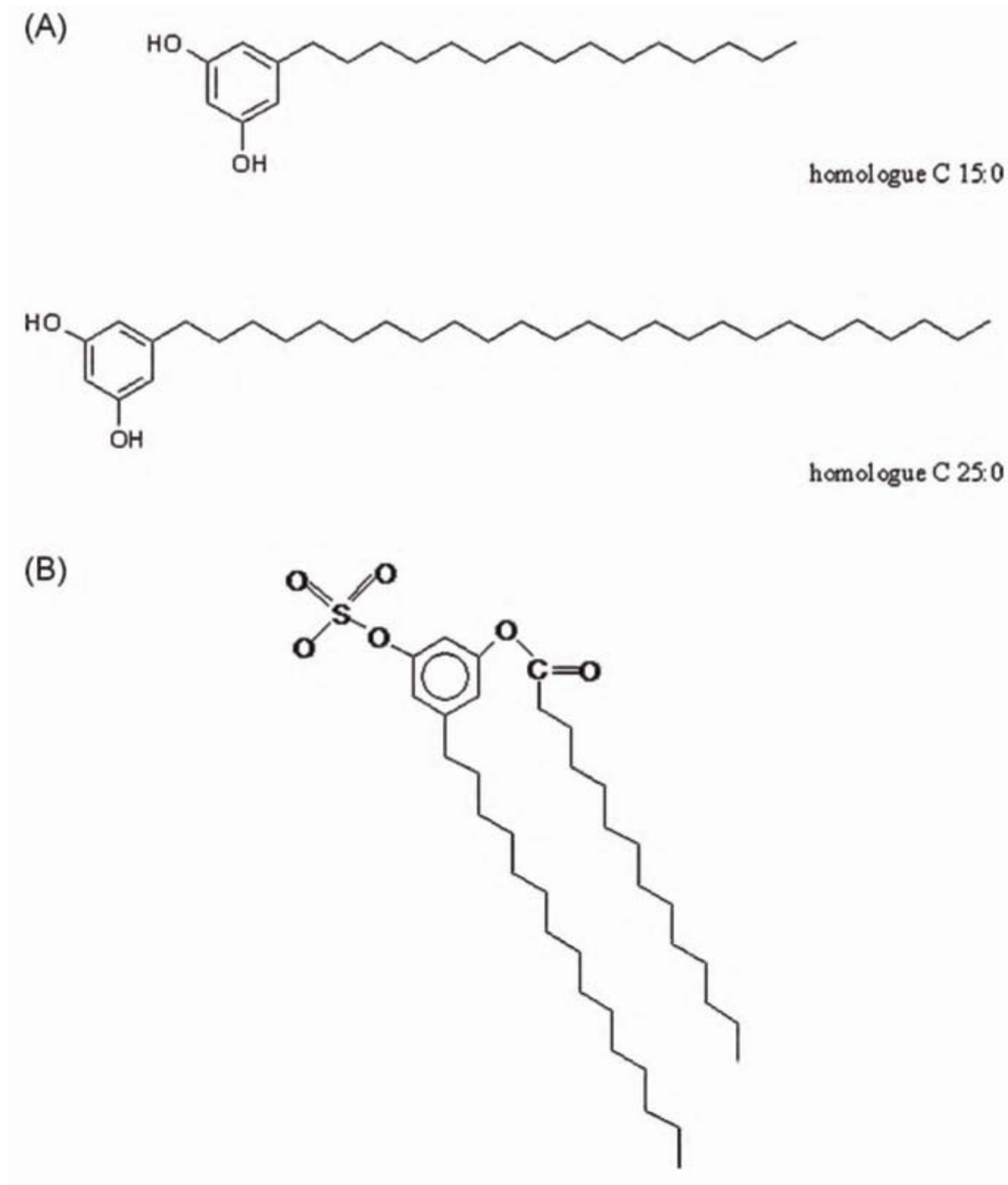


Abbildung 10: Struktur von Alkylresorcinol aus Roggen (C15:0 und C25:0) (A) und MSAR (1-sulphate-3-myristoyl-5-pentadecylbenzenes) (B). [Zant-Przeworska et al, 2010]

6.6 Biomarker für die Ballaststoffaufnahme

In der GrainMark Studie wurde der Vollkornkonsum von Freiwilligen mittels Biomarker unter dem Einsatz von Metabolomic-Modellen wie „top-down“ bzw. „bottom-up“ untersucht. Alkylresorcinole und Lignane (Enterodiol und Enterolactone) wurden als Biomarker verwendet. Die Probanden konsumierten nach einer vierwöchigen „wash-out“ Periode, in der sie keine Vollkornprodukte verzehren durften, über die nächsten vier Wochen Vollkornweizen- und Vollkornroggenprodukte. Plasma und Urin wurden auf AR mit GC-MS und auf Lignane mit HPLC analysiert. Der metabolische Fingerabdruck wurde unter dem Einsatz von FIE-MS und GC-TOF-MS erstellt. Die Ergebnisse zeigten, dass die Plasma-Konzentration von AR signifikant mit der Vollkornaufnahme (bei Weizen und Roggen) korrelierte. Die C17:C21-Ratio war zusätzlich ein brauchbarer Indikator für die Unterscheidung des Vollkorngetreides. Der Gehalt an Lignanen im Plasma lieferte keine nennenswerten Ergebnisse, jedoch konnten die Metaboliten im Urin gut als Biomarker für die Vollkornaufnahme herangezogen werden. Die GrainMark Studie zielte jedoch im wesentlichen darauf ab, Unterschiede im Metaboliten-Muster zu erkennen. Besser verwertbare Information darüber lieferten die Urinproben als die des Plasmas. Neben den bereits bekannten AR-Metaboliten DHBA und DHPPA konnten jedoch auch weitere unbekannte Metaboliten gefunden werden, vermutlich als Resultat der Roggenvollkornaufnahme. Die Verwendung eines ungezielten „bottom-up“-Ansatzes lässt also darauf schließen, dass in Ernährungsbiomarker-Studien noch großes Potential vorhanden ist und es können vermutlich noch weitere Biomarker identifiziert werden [Primerose S. et al, 2011].

6.7 Analytik

Extraktion aus Getreide: Die meisten AR-Homologe sind in Methanol extrahierbar. Um für langkettige AR (C23:0 und C25:0) dieselbe Intensität zu erreichen wie für die kürzerkettigen Homologe ist die Verwendung von Aceton oder Ethylacetat

zweckmässiger. Da sich der größte Anteil der AR's in der Schale des Korns befindet, können ganze Getreidekörner verwendet werden. Dazu werden 0,1-5g Getreide für 16-24h in Methanol, Aceton oder Ethylacetat bei Raumtemperatur extrahiert. Mit einem Soxhlet-Extraktor mit Aceton oder Cyclohexan kann diese Dauer auf 2h verkürzt werden. Ein Mahlen des Getreides reduziert die Extraktionszeit, erhöht jedoch die Anzahl an Nebenprodukten im Analysematerial, welches die chromatographische Auswertung später erschwert [Ross A. B. et al, 2004].

6.7.1 Analyse im Urin

Die beiden im Urin enthaltenen AR-Metabolite DHPPA und DHBA wurden von Koskela et al mittels HPLC-CEAD quantitativ bestimmt. Dafür wurden von 15 Probanden, die eine Woche lang Vollkornweizen und Vollkornroggenbrot konsumierten, Urinproben gesammelt. Auch von 3 Probanden mit Zöliakie, welche keine Weizen- oder Roggenprodukte konsumierten, wurden Urinproben gesammelt. Als interner Standard wurden 100µl Urinprobe jeweils 600ng Syringasäure (4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzoesäure) in 8µl Methanol zugeführt. Hydrolysiert wurde mit 0,1mol/L Na-Acetatpuffer (pH 5), 0,2 kU/L Beta-Glucuronidase und 2 kU/L Sulfatase. Nach der Inkubation wurden jeweils 3x50µl-Anteile genommen (A,B und D) und unterschiedlich aufbereitet. Probe C wurde nicht hydrolysiert. (Prinzip siehe Abbildung 11).

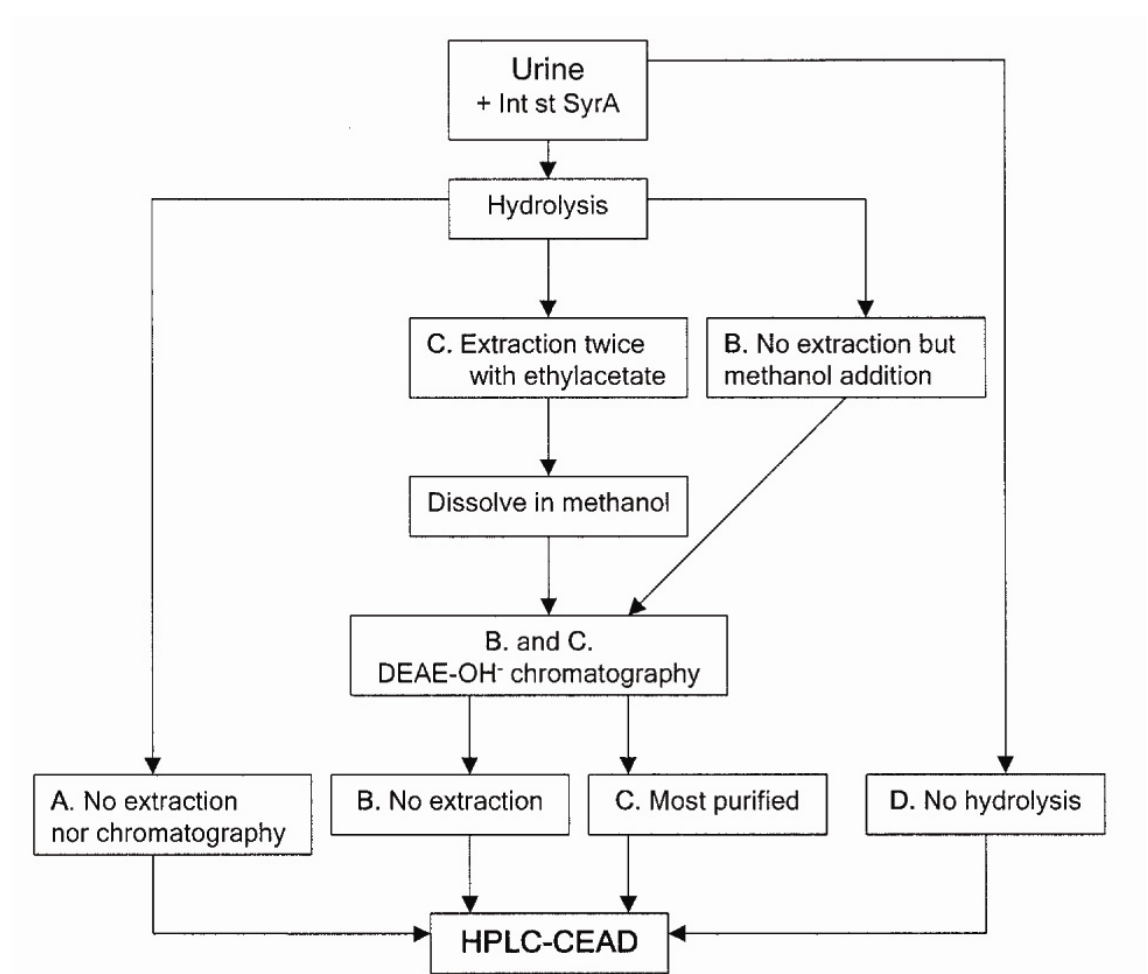


Abbildung 11: Probenprotokoll für DHBA und DHPPA in Urin. [Koskela A. et al, 2007]

Die Ergebnisse ergeben sich wie folgt: Die höchsten Konzentrationen an DHBA und DHPPA befanden sich in der Probe „D“. Daraus folgt, dass diese beiden Metabolite im Urin in unkonjugierter Form vorliegen.

Die Proben „A“, „B“ und „C“ zeigten annähernd die gleichen Ergebnisse ohne nennenswerte Unterschiede. Die Urinproben der Zöliakie-Probanden wiesen erwartungsgemäß geringe DHBA und DHPPA Konzentrationen auf. Diese geringen Mengen lassen sich durch eine hirse-, korn-, cashewnuss- und bohnenreiche Ernährung erklären. Diese Nahrungsmittel enthalten sehr geringe Mengen an ARs. Weiters konnten Strukturuntereinheiten der Flavonoide oder deren 2,3-, 2,4- oder 3,4-dihydroxylierten Abbauprodukte zu diesem Ergebnis führen [Koskela A. et al, 2007].

6.7.2 Analyse im Blut

Landberg et al beschrieben im Rahmen ihrer Studie über die Aufnahme von Vollkornweizen bzw. Roggen die Analyse von AR im Blut. Dafür wurden von 30 Probanden Blutproben abgenommen und diese in heparinbeschichtete Vacuum Tubes gefüllt. Nach dem Zentrifugieren wurde das Plasma in 2mL Cryotubes bei -80°C aufbewahrt. Anschließend wurde das Plasma auf die Total-AR-Konzentration und die relative AR-Homolog-Zusammensetzung untersucht. Da AR20:0 nicht natürlich vorkommt, wurde dies als interner Standard verwendet. Zunächst wurde 0,5mL Plasma mit 45ng internen Standard gemischt und mit 0,5mL Wasser bei 37°C inkubiert. Danach wurden die Proben mit Diethylether extrahiert, im Rotavapor getrocknet und in 0,5mL Methanol gelöst. Die ARs wurden von nicht-polaren Lipiden mittels Diethyl-Amino-Ethyl-Sephadex A-25 Ionenaustausch-Gel separiert, als freie Base in Methanol gelöst und in Pasteur-Pipetten gefüllt. Die ARs wurden mit 6mL Methanol ausgewaschen, getrocknet bzw. mit 0,2mL Pyridin/Hexamethyldisilazan/Trimethylchlorosilan (9:3:1; vol:vol:vol) silyliert. Schließlich wurden die Proben mittels GC-MS analysiert [Landberg R. et al, 2008].

6.7.3 Dünnschichtchromatografie

Eine schnelle qualitative Analyse, um zwischen gesättigten und ungesättigten AR-Homologen zu unterscheiden, ermöglicht die Dünnschichtchromatografie. Bei dieser Methode werden mit Silbernitrat imprägnierte Silicagel-Platten verwendet. Für die quantitative Analyse sind jedoch andere Methoden notwendig [Knödler M. et al, 2008]. Die mobile Phase ist abhängig von der Matrix in der sich die AR's befinden. Bei Platten mit einer Beschichtung aus 20% Silbernitrat in 50% Methanol mit einem Laufmittel aus Benzen/Ethylacetat (85:15, v/v) kommt es zu einer Auftrennung der ungesättigten AR's. Eine Imprägnierung der Platten mit 5% Paraffinöl in n-Hexan und einem Laufmittel aus Aceton:Methanol:Wasser (60:15:25, v/v/v) ermöglicht die Trennung nach der Kettenlänge. [Ross A. B. et al, 2004]

6.7.4 Gaschromatographie (GC)

Eine geeignete und schnelle quantitative Auftrennung nach der Kettenlänge ermöglicht die Gaschromatographie gekoppelt an einen Flammenionisationsdetektor (FID). Die Auftrennung erfolgt mit einer Kapillar-GC und einer nicht-polaren stationären Phase wie z.B. 100% Dimethylpolysiloxan oder 5% Phenyl-methylsiloxan mit Helium als Trägergas. AR-s müssen nicht derivatisiert werden, jedoch verkürzt sich die Retentionszeit durch Derivatisierung (Trimethylsilylether) und mit zusätzlicher Kombination einer kurzen Säule (DB 1,12m) beträgt die Analysezeit weniger als 20min. Unter dem Einsatz von GC-FID liegt die Nachweisgrenze bei 5µg/g [Ross A. B. et al, 2004]. Eine Derivatisierung in TMS-Derivate von ARs liefert in Kombination mit der MS-Detektion Informationen über bestimmte Fragmente und Strukturen von AR. Somit können Keto-Derivate von Roggen-Kleie AR im GC-MS-Chromatogramm identifiziert werden. Normalerweise ist eine Detektion der Keto-Derivate schwierig, da sie nur als kleine Fraktion im Gesamt-AR-Muster von Weizen und Roggen vorkommen. Die GC-MS-Methode ermöglicht z.B. die Detektion von Plasma-AR Konzentrationen im ng/g Bereich. Eine weitere Technik unter dem Einsatz von Fast Atom Bombardement (FAB) zur Ionisierung kombiniert mit einem MS steht ebenso zur strukturellen Charakterisierung von AR zur Verfügung [Ross A. B. et al, 2004].

6.7.5 High-Performance-Liquid-Chromatographie (HPLC)

Da AR lipophile Substanzen sind, müssen sie vor der Analyse mit der HPLC gefiltert oder durch Festphasen-Extraktion gereinigt werden. Durch eine Solubilisierung mit polaren Lösungsmitteln, wie z.B. Methanol, kann eine höhere Peak-Genauigkeit und bessere Auftrennung erzielt werden. Als mobile Phase wurden in verschiedenen Studien neben 100% Wasser, Methanol-Wasser-Gemischen noch viele andere Gemische eingesetzt. Um die unterschiedlichen AR-Homologe zu differenzieren, eignet sich die Analyse mittels GC- Techniken hervorragend. Die HPLC eröffnet jedoch mehr

Möglichkeiten, wasserlösliche AR-Metabolite in biologischen Medien zu detektieren. [Ross et al, 2004].

6.8 Zusätzliche Funktionen von Alkylresorcinolen

6.8.1 Mögliche Alkylresorcinol-Anreicherung von Lebensmitteln

Ein gesundheitlicher Nutzen von AR ist in einigen Studien postuliert worden. Somit wäre eine zusätzliche Anreicherung von Brot mit AR eine möglicherweise vorteilhafte Maßnahme. Andersson et al untersuchten die mögliche Anreicherung von Hefe-Sauerteig-Brot mit AR und analysierten anschließend eventuelle Auswirkungen auf die Broteigenschaften. Dafür wurden Proben von Vollkornmehlen (Weizen, Hartweizen und Roggen) mit Aceton extrahiert. Die Reinheit des Extrakts wurde mittels GC gemessen. Für Vergleichszwecke wurde neben den angereicherten Broten zusätzliche Kontrollbrote mit natürlichen AR gebacken [Andersson A. et al, 2010].

Ergebnisse der Studie: Im Weizenbrot zeigten AR-Zusätze in relativ hohen Konzentrationen (5-10g/kg) negative Effekte, unter anderem wurde ein niedrigeres Brotvolumen, eine zu kompakte Krume bzw. eine ungünstige Mikrostruktur festgestellt. Dagegen hatten niedrige Konzentrationen (1g/kg) keinerlei Effekte auf die Broteigenschaften. Als weitere Auswirkung durch hohe Konzentrationen (5g/kg) wurde die Bäckerhefe-Aktivität herabgesetzt. Bei einer Zugabe von 200g Roggenkleie/kg Brot, sowie nativem AR (~1g/kg) im Vergleich zu Aceton-extrahierten AR konnte jedoch kein Einfluss auf das Brotvolumen bzw auf die Krumeneigenschaft nachgewiesen werden [Andersson A. et al, 2010].

6.8.2 Authentizitätsprüfung in Lebensmitteln

Ein weiterer interessanter Aspekt ergibt sich aus der Möglichkeit der Untersuchung auf Verfälschungen von Getreideprodukten. Knödler et al haben anhand der AR-Zusammensetzung die Authentizität von Vollkorn-Hartweizen in Mehlen und Teigwaren geprüft. Der steigende Trend zum Konsum von Vollkornprodukten in vielen Ländern bringt eine erhöhte Nachfrage nach den entsprechenden Produkten. Durch die Analyse des C17/C21-AR-Ratio sollen somit Verfälschungen von Vollkorn-Hartweizen-Mehlen und Teigwaren festgestellt werden können [Knödler M. et al, 2008].

6.8.3 Krebspräventive Wirkung von Alkylresorcinolen

Durch ARs können einige indirekte Mutagene (z.B. Chlorkohlenwasserstoffe) unschädlich gemacht werden. In Kombination mit Anthocyanen dienen sie als gute Inhibitoren für die Geschwindigkeit und Frequenz der induzierten Mutation von kultivierten Lymphozyten [Ross A.B. et al, 2004]. Im Jahr 2001 wurde erstmals die krebspräventive Wirkung von ARs erforscht. Als Resultat konnte ihre Fähigkeit in genotoxisch geschädigten Zellen eine Apoptose hervorrufen zu können berichtet werden. Die Kettenlänge scheint dabei eine große Rolle zu spielen, da ARs mit einer Kettenlänge von C15:0 und C17:0 am effektivsten bei der Krebsprävention zu sein scheinen. Zudem scheint eine geringe Menge an Roggen-ARs (5-20µM) keine toxische Wirkung auf gesunde HepG2 oder 3T3-L1 Zellen zu haben [Gasiorowski K. et al, 2001]. Darüber hinaus sind ARs in der Lage, in Gegenwart von Kupfer-Ionen DNA zu spalten. Es kommt zuerst zu einer Oxidation des Resorcin-Ringes zu Trihydroxybenzen und dann zu einer Komplexbildung mit Kupfer zwischen zwei benachbarten Hydroxylgruppen. Diese Reaktion wird noch durch eine vorherige Oxygenierung verbessert. Schon bei geringer Konzentration kann C15:1 die DNA spalten und auch die β -DNA-Polymerase hemmen. Dadurch ist es in der Lage DNA-Schäden zu verhindern und ist somit möglicherweise nützlich für die Krebstherapie [Ross A. et al, 2004]. Auch

bei Öl aus Weizenkleie konnte ein vermindertes Wachstum der Darmkrebszellen HCT116 und HT29 beobachtet werden. Lange wurde dieser Effekt auf die im fermentierten Weizen vorkommende Buttersäure und Orthophenolsäure zurückgeführt. Jedoch musste dies widerlegt werden, da Haferkleie einen höheren Anteil an Buttersäure hat und diese sogar die Karzinogenese erhöht. In einer jüngsten Studie konnte nun festgestellt werden, dass 5-n-alkyl(en)ylresorcinol die Proliferation der Krebszellen hemmt. Die Länge der Alkylketten ist dabei von entscheidender Bedeutung. Je Länger die Kette, desto geringer der Inhibitoreffekt. Eine Doppelbindung in der Kette steigert jedoch diese Fähigkeit wieder. Auch eine Carbonylgruppe in der Alkylkette verbessert die Eigenschaft erheblich [Zhu Y. et al, 2011].

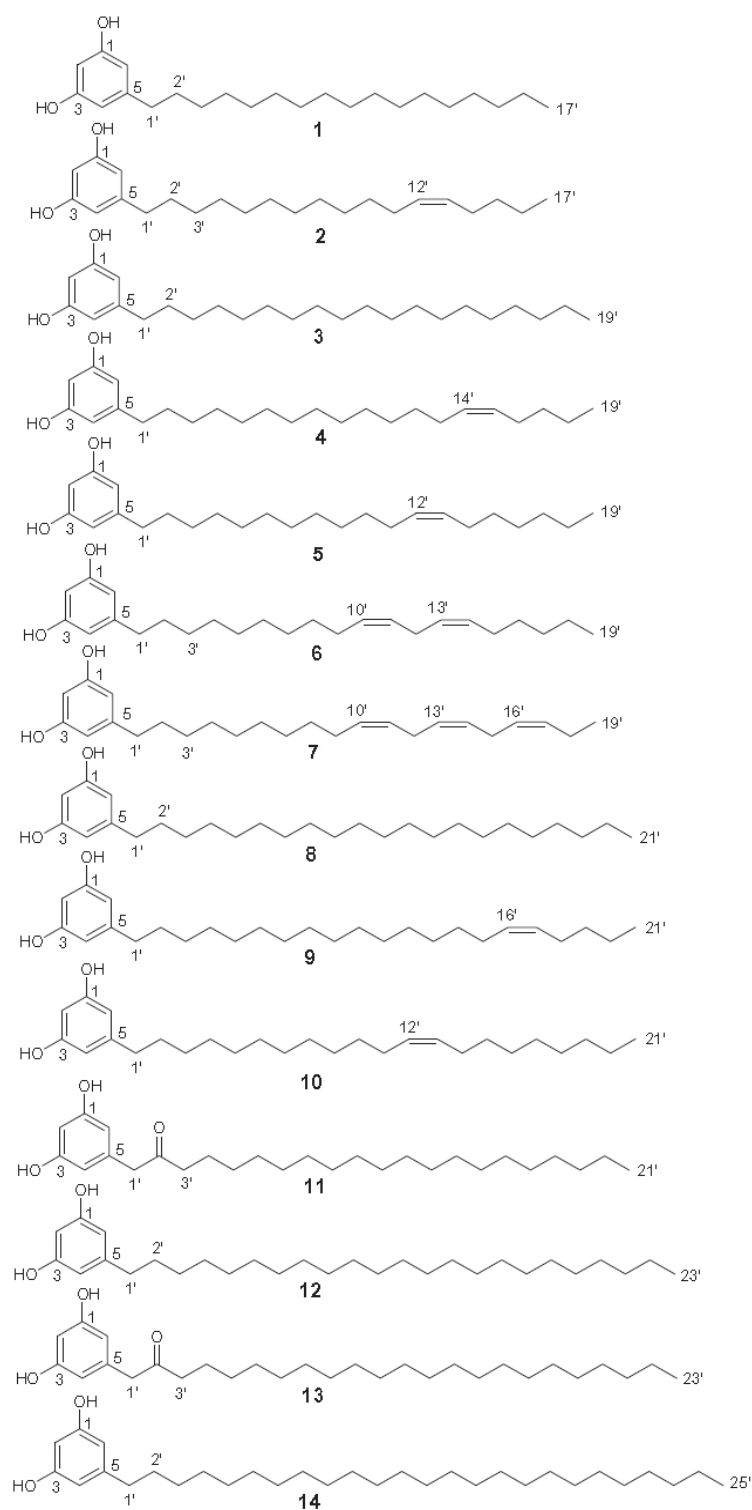


Abbildung 12: 5-n-heptadecylresorcinol (1), (12'Z)-5-(heptadec-12'-enyl)resorcinol (2), 5-n-nonadecylresorcinol (3), (14'Z)-5-(nonadeca-14'-enyl)resorcinol (4), (12'Z)-5-(nonadeca-12'-enyl)resorcinol (5), 5-(nonadeca-10',13'-dienyl)resorcinol (6), 5-(nonadeca-10',13',16'-trienyl)resorcinol (7), 5-n-heneicosylresorcinol (8), (16'Z)-5-

(heneicos-16'-enyl)resorcinol (9), (12'Z)-5-(heneicos-12'-enyl)resorcinol (10), 5-(2'-oxoheneicosyl)resorcinol (11), 5-n-tricosylresorcinol (12), 5-(2'-oxotricosyl)resorcinol (13), 5-n-pentadecylresorcinol (14). [mod. Zhu Y. et al, 2011]

6.8.4 Zufuhr von Alkylresorcinolen

Dass ARs nun einen hauptsächlich positiven Nutzen haben wurde bereits mehrmals festgestellt. Es stellt sich jedoch die Frage, wie die Zufuhr beim Menschen aussieht und ob diese in ausreichendem Maß sichergestellt ist. In einer Studie von Ross et al (2005) wurde mittels einer Lebensmittelverzehrserhebung in schwedischen und englischen Familien der Konsum von Vollkornprodukten (Weizen und Roggen) ermittelt. Da diese beiden Länder einen sehr unterschiedlichen Getreidekonsum haben, konnten aussagekräftige Daten erhoben werden. Während in England hauptsächlich „Weißbrot“ verzehrt wird (wie auch z.B. in den USA), bevorzugt die schwedische Bevölkerung dunkle Brotsorten (typisch auch in anderen nordeuropäischen und teilweise auch in osteuropäischen Ländern).

Studiendesign: Anhand der Verzehrstudien von 1215 Schweden und 1381 Engländern wurden die für diese Personen üblichen Lebensmittel mittels GC analysiert. Dabei konnte schon ein großer Unterschied der Ernährungsgewohnheiten erkannt werden. In nur zwei Lebensmittelkategorien in England enthielten die Produkte Alkylresorcinole („Spezialbrot“ und „Müsli“). In allen anderen Kategorien, wurde hingegen kein AR gefunden (z.B. Bagels, Croissants, Haferschleim). In England konsumierten rund 50% der Personen keine Vollkornprodukte, während in Schweden nur 3% diese Produkte nicht konsumierten. In beiden Ländern wird zwar regelmäßig Brot gegessen, die Zufuhr an AR unterscheidet sich aber innerhalb dieser Länder. Die Ursache dafür liegt darin, dass Brot mit einem hohen Vollkornanteil vermehrt von der gesamten schwedischen Bevölkerung gern gegessen wird, in England jedoch hauptsächlich von der älteren Generation konsumiert wird [Ross AB et al, 2005].

Das heißt also, dass in Studien über die AR-Aufnahme auch die kulturellen Unterschiede bei der Erhebung berücksichtigt werden müssen. Da England ein

typisches „Weißbrot-Kultur-Land“ ist, werden Produkte mit einem hohen Vollkorngehalt kaum angeboten. In Schweden hingegen als „Schwarzbrot-Kultur-Land“ ist die Nachfrage an diesen Produkten vorhanden und somit ist eine hohe AR-Aufnahme gesichert [Bondia-Pons I et al, 2009]. Solche Verzehrsstudien sind daher von großem gesundheitspolitischem Interesse.

6.8.5 Entwicklung neuer Weizensorten mit gesundheitlichem Nutzen

Weizen ist eines der wichtigsten landwirtschaftlichen Erzeugnisse, die weltweite Produktionsrate beträgt 600-700 Millionen Tonnen/Jahr. Über 100 Tonnen gelten als internationale Exportware, der Rest wird innerhalb der Produktionsländer verwendet. Im Handel ist die Qualität, der Gehalt an Proteinen, die Backfähigkeit, sowie die Textur (Hartweizen vs Weichweizen) bzw. der möglichst geringe Gehalt an Kontaminanten von Bedeutung. Zunehmend wird auch die ernährungsphysiologische Qualität von Getreide immer wichtiger, um im Kampf gegen Fettleibigkeit, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Diabetes Typ 2, bei erhöhter Verzehrshäufigkeit dieses Produkts zu profitieren. Es wird immer deutlicher, dass der gesundheitliche Nutzen von Vollkorngetreide auf die verstärkte Aufnahme von Mikronährstoffen, sekundären Pflanzenstoffen und Ballaststoffen zurückzuführen ist [Fardet A. 2010]. Zusätzlich besteht großes Interesse an der Manipulation der Stärke-Zusammensetzung im Weizenmehl, um die glykämische Reaktion darauf zu verändern. Da jedoch nicht alle Getreideproben routinemässig analysiert werden, ist das Wissen über die unterschiedliche Zusammensetzung gering. Inwieweit der Genotyp, die Umwelt und die Art der Produktion einen Einfluss darauf hat, wurde in der **HEALTHGRAIN-Study** an 150 verschiedenen Weizensorten (130 Wintersorten und 20 Sommersorten), wie Hart- und Weichweizen, rote und weiße Kornfarbe sowie hohe oder niedrige Proteingehalte untersucht. Die HEALTHGRAIN Studie hatte damit die größte Datenbank in Bezug auf die Menge bzw. Zusammensetzung der bioaktiven Substanzen im Weizen zur

Verfügung gestellt. Große Unterschiede gibt es unter den Sorten bei bestimmten Substanzen wie Arabinoxylan in Weißmehl und Tocolen, Sterolen und Alkylresorcinolen in Vollkornmehl. Deshalb sollte es möglich sein, neue Weizen-Sorten mit hohen Gehalten an bioaktiven Komponenten, einer hohen Ausbeute, mit guten agronomischen Eigenschaften und einer hohen Verarbeitungsqualität zu entwickeln. Dieses Unterfangen wird durch Technologien, die teilweise im Rahmen des Programms entwickelt wurden, einschließlich biochemischer und molekularer Marker, spezifische Antikörper und Nahinfrarot-Spektroskopie (NIR) erleichtert [Shewry PR et al, 2012].

7 Schlussbetrachtung

Eine der größten Herausforderungen in der Ernährungsepidemiologie sind immer noch Probleme und Ungenauigkeiten beim Sammeln von Ernährungsdaten, speziell mit FFQs. Die verschiedenen Lebensmittelverarbeitungsmethoden sind eine zusätzliche Herausforderung für Konsumenten und Forscher, um den Vollkornanteil von Lebensmitteln richtig einzuschätzen. Eine deutliche Verbesserung stellt die Verwendung von Biomarkern dar. Diese könnten in Verbindung mit Ernährungserhebungen oder auch alleine eingesetzt werden, speziell wenn keine Daten erhoben werden können, bzw. verlässliche Verzehrdaten fehlen. Die Biomarker können desweiteren als Marker für die Compliance bei Interventionsstudien dienen, um eine eventuelle Abnahme von Erkrankungsrisiken (Kardiovaskuläre Erkrankungen, Adipositas, DM2 und einige Krebsarten) mit der Zunahme des Verzehrs an Vollkornprodukten in Verbindung zu bringen [Ross AB, Sept. 2011]. Meiner Meinung nach können Vollkornprodukte nicht allgemein als Empfehlung für die Gesundheit gelten, da in vielen Ländern und Kulturen der Verzehr von Vollkornmehlen unüblich ist. Die Nachfrage bestimmt das Angebot und somit werden diese Produkte in diesen Ländern normalerweise weder produziert noch sind sie den Verbrauchern in ausreichender Menge verfügbar. Bedenklich wäre aber auch eine übermäßige Anreicherung von Convenience-Produkten mit Ballaststoffen um den Gesundheitsfaktor zu erhöhen falls sie ohne entsprechenden Angaben in der Kennzeichnung (Zutatenliste) in Verkehr gebracht werden. Es ist bekannt, dass eine hohe Ballaststoffaufnahme ohne ausreichender Zufuhr von Flüssigkeit zu groben Darmproblemen führen kann.

7.1 Alkylresorcinole als Biomarker von Vollkornweizen und –Roggen-Aufnahme

Seit Alkylresorcinole als potentielle Biomarker der Ballaststoffaufnahme von Weizen und Roggen erkannt wurden, gab es eine hinreichende Anzahl an Studien, die sich mit

dem Thema auseinandersetzen. Die Ergebnisse aus Studien, die sich mit Plasma-AR und deren Metaboliten in Plasma und Urin beschäftigten zeigten, dass AR ein zufriedenstellender Biomarker unter Erfüllung der geforderten Kriterien darstellt. (siehe Tabelle 2). Jedoch gibt es Lücken in der Erforschung der Bioaktivitäten und auch bezüglich ihrer Funktion als Biomarker sind noch einige Fragen offen. Zu nennen sind unter anderem die interindividuellen Schwankungen, deren Zusammenhang noch nicht klar ist. Darüber hinaus ist die Anwendung auf verschiedene epidemiologische Kohorten noch nicht erforscht.

Validierungskriterien:	Alkylresorcinol:
Quantitative Analyse von Getreide und Lebensmittel	GC, HPLC, Kolorimetrie
Nicht in anderen LM enthalten	In Weizen, Roggen, Triticale, Gerste. Geringe Mengen in Mangofleisch
Keine Veränderungen bei der Verarbeitung	Stabil beim Backen und bei Teigwarenproduktion; minimale Veränderung bei der Fermentation von Roggen
Gehalt im Rohmaterial	Weizen (350-900 µg/g) Roggen (500-1300 µg/g) Gerste (30-100 µg/g)
Quantitative Analyse von biologischen Proben	GC-MS (Plasma, Erythrocyten, Gewebe, Metaboliten in Urin u. Plasma) GC-MS/MS (Plasma, Erythrocyten) LC-MS/MS (Plasma) HPLC-CAED (Metaboliten)
Absorption	Schweine: 60-70%, dosisabhängig Menschen: 58% Absorption im Dünndarm
Metabolismus	Hauptmetaboliten: DHBA und DHPPA in Urin und in Plasma
Eliminierung	61% und 31% als Einzeldosis im Fäzes und Urin von Ratten Wiederfindungsrate im Urin ist dosisabhängig (45-89%)
Dosis-Wirkungs-Beziehung	Je höher die Dosis an AR, desto niedriger die Absorptionsrate (bei Schweinen) Wiederfindungsrate im Urin ist %niedriger, je höher die Aufnahme an AR
Pharmakokinetik	Schweine: Tmax 3h ; T1/2 4h Menschen: Tmax 2,8h; Tmax2 6,7h; T1/2 4,8h

	Plasma-Metabolite: Tmax 6h; T1/2 10-16h Urin-Metabolite: Tmax 6h; T1/2 10-12h
Plasmakonzentration	Geschlecht: Männer haben generell höhere Konzentrationen In Triglyzeride und Lipoproteine und Unveresterte Fettsäuren

Tabelle 2: Validierung eines Biomarkers am Beispiel von Alkylresorcinol. (mod. nach [Ross AB, 2011])

7.2 Bioaktivität von ARs

Hinweise für die Fähigkeit der ARs, sich in Membranen zu integrieren und Enzyme zu hemmen, basieren auf in vitro-Tests und sind meist unzureichend [Stasiuk M. und Kozubek A., 2010]. Generell sind eine Vielzahl der zugeschriebenen Bioaktivitäten auf in vitro-Tests zurückzuführen, z.B. Induktion der Apoptose, Hemmung der Lipoxygenase, Spaltung der DNA und Reduktion von Triglyzeriden in Adipozyten [Ross AB et al, 2004; Kozubek A. und Tyman JH, 1999; Stasiuk M. und Kozubek A. 2010; Andersson U. et al, 2011]. Weiters weisen sie eine schwache antioxidative Wirkung auf, jedenfalls ist sie nicht mit der antioxidativen Kapazität von z.B. α -Tocopherol zu vergleichen. Die erforderliche Menge um die LDL-Oxidation zu hemmen, wurde mit 2,5mmol/L und 75mmol/L ermittelt. Nach einer AR-reichen Ernährung betrug die durchschnittliche Konzentration in den Erythrozyten 315nmol/L und im Plasma 166nmol/L. Eine wirksame Konzentration kann also unter „normalen“ Bedingungen nicht erreicht werden. Als eine der wichtigsten Komponenten bei der Prävention von Dickdarmkrebs wurden die in Weizenkleie und dessen Öl vorkommenden ARs genannt. Im Tiermodell bzw. in-vitro-Versuchen wurde eine antimutagene und apoptotische Aktivität festgestellt [Zhu Y. et al, 2011]. Leider trifft dieser Effekt nicht auf alle Krebsarten zu, da Versuche mit isoliertem AR in Mäusen, bei denen Prostatakrebs implantiert wurde, keine Wirkung zeigte, obwohl Roggenkleie im selben Versuch das Tumorwachstum bremste [Bylund A. et al, 2000]. In zwei Studien über Brustkrebs und

Endometrialkrebs bei Frauen konnte keine Verbindung zwischen dem Krankheitsauftreten und dem Konsum von Vollkorngetreide festgestellt werden [Aubertin-Leheudre M. et al, 2010; Olsen A. et al, 2010].

7.3 Alkylresorcinol als Marker des Vollkorngehalts in Lebensmitteln

Als eine weitere Funktion der ARs kann also der Vollkornanteil in Lebensmitteln bestimmt werden. Auch die verschiedenen Kornfraktionen in Zerealien können damit bestimmt werden [Barron C. et al, 2011]. Weiters besteht die Möglichkeit, eine Kontamination durch Gluten (aus Weizen, Roggen, Gerste) in glutenfreien Lebensmitteln nachzuweisen [Ross A., Sept. 2011]. Zusätzlich kann anhand des Plasma-AR-Gehalts getestet werden, ob eine Person mit Zöliakie die glutenfreie Diät einhält, da auch Weißmehl einen geringen Anteil an ARs enthält (ca. 20-50µg/g) und somit im Plasma zu finden ist [Linko AM et al, 2002]. Durch die Authentizitätsprüfung von Vollkornmehlen oder –nudeln kann eine Verfälschung der Produkte durch einen hohen Weißmehlanteil identifiziert werden [Knödler M. et al, 2008].

7.4 Alkylresorcinol als Biomarker der Compliance in Studien

Die Compliance in Interventionsstudien ist oftmals unzureichend, vor allem in Studien die über einen längeren Zeitraum hinweg laufen. Biomarker der Compliance werden deshalb zur Kontrolle der Verzehrshäufigkeit eingesetzt (z.B. Plasma Carotinoide, 24h Harn-Stickstoff und Kalium). Beim Probanden sind Biomarker auch zusätzliche Motivationsfaktoren zur Einhaltung der Diät, da dies in biologischen Proben überprüft werden kann. In nur zwei Studien wurde bisher Plasma-AR als Compliance-Biomarker eingesetzt [Ross AB et al, 2011; Kristensen MB et al]. Grund dafür sind die fehlenden Cut-off-Punkte, die unterscheiden, ob die Person zu wenig davon gegessen hat, oder

ob derjenige von Natur aus ein niedriger Absorber oder schneller Metabolisierer der Nahrung ist. Hier ist noch großer Bedarf an kontrollierten Studien, um festzustellen, ob eine Person wenig Vollkornprodukte isst, oder wie viel davon und ab welcher Menge es feststellbar ist, ob die Compliance erfüllt ist oder nicht [Ross AB, Sept. 2011].

7.5 Entwicklungen im Bereich der Metabolomikforschung

Für die Bestimmung der Nahrungszufuhr mittels Metabolomics müssen noch einige Fragen geklärt werden und es besteht noch Forschungsbedarf. Beispielsweise ob bestimmte Biomarker als quantitative oder qualitative Indikatoren für den Verzehr von verschiedenen Nährstoffgruppen (Mikro- oder Makronährstoffe), speziellen Lebensmittelgruppen oder von besonderen Ernährungsgewohnheiten verwendet werden können. Die Entwicklung einer Metabolitendatenbank für Lebensmittel, um die Identifizierung von Biomarkern aus Urin oder Plasma zu beschleunigen, ist notwendig. Um die Validierung und Entwicklung von Biomarkern zu erleichtern, sollten Toolboxes zum experimentellen Arbeiten zur Verfügung stehen. Nach der Entwicklung geeigneter Biomarker würden neue Target-basierte Methoden mit gängigerer Analytik wie ELISA die Quantifizierung ermöglichen. Für Kohortenstudien müssten größere Mengen von Analysematerialien wie Urin oder Plasma verwendet werden können, dafür ist die Entwicklung und Validierung von robusten, stabilen Metabolomik-Methoden wichtig. Der Einfluss des metabolischen Phänotyps auf die Ernährungsgewohnheiten und die Metaboliten-Konzentration in Blut oder Urin ist noch unklar. Die Erforschung dieses Einflusses ist wichtig, um die inter-individuelle Variabilität von Ernährungsbiomarkern zu verstehen. Dies könnte Informationen über die Zusammenhänge zwischen der Nahrungsaufnahme und Gesundheit bzw. Krankheiten liefern [Primrose S. et al, 2011].

8 Literaturverzeichnis

Andersson U, Dey ES, Holm C, Degerman E. Rye bran alkylresorcinols suppress adipocyte lipolysis and hormone-sensitive lipase activity. *Molecular Nutrition and Food Research* (2011), 55/2. 290-293.

Aubertin-Leheudre M, Koskela A, Samaletdin A, Adlercreutz H. Plasma and urinary alkylresorcinol metabolites as potential biomarkers of breast cancer risk in Finnish women: a pilot study. *Nutrition and Cancer* (2010). 62/6, 759-764.

Barron C, Samson MF, Lullien-Pellerin V, Rouau X. Wheat grain tissue proportions in milling fractions using biochemical marker measurements: application to different wheat cultivars. *Journal of Cereal Science* (2011), 53, 306-311.

Blum S, Vardi M, Brown JB, Russell A et al. Vitamin E reduces cardiovascular disease in individuals with diabetes mellitus and the haptoglobin 2-2 genotype. *Pharmacogenomics* 2010, 11, 675–684.

Bondia-Pons I, Aura AM, Vuorela S, Kolehmainen M, Mykkänen H, Poutanen K. Rye phenolics in nutrition and health. *Journal of Cereal Science* 49 (2009) 323-336.

Bylund A, Zhang JX, Bergh A, Damber JE, Widmark A, Johansson A, Adlercreutz H, Åman P, Shepherd MJ, Hallmans G. Rye Bran and Soy Protein Delay Growth and Increase Apoptosis of Human LNCaP Prostate Adenocarcinoma in Nude Mice. *Prostate* (2000), 42, 304-314.

Bracht Karin. Indikatoren für Diagnose und Therapie. *Pharmazeutische Zeitschrift Online Ausgabe* 12/2009. Stand: 25.01.2012

Chavez A und Munoz M. Nutrigenomics in public health nutrition: short-term perspectives. *European Journal of Clinical Nutrition* (2003) 57, 97–100.

DACH-Referenzwerte: DGE, ÖGE, SGE, SVE: Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. 1. Auflage. 3. vollständig korrigierte Nachdruck. Umschau Braus GmbH, Verlagsgesellschaft, Frankfurt am Main (2008).

Daniel Hannelore und Klein Ulla. Moderne Ernährungsforschung: Personalisierte Ernährung-wie nah ist die Zukunft? Journal für Ernährungsmedizin 2011; 13 (3), 6-9.

Dragsted Lars O. Biomarkers of meat intake and the application of nutrigenomics. Meat Science 84 (2010) 301-307.

Elmadfa Ibrahim. Ernährungsstatus. In: Ernährungslehre. Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co. 2004, 8:55-56.

Elmadfa I, Freisling H, Nowak V, Hofstädter D, et al. Österreichischer Ernährungsbericht 2008. 1. Auflage, Wien, März 2009.

Eshak ES, Iso H, Date C, Kikuchi S, Watanabe Y, Wada Y, Wakai K, Tamakoshi A, JACC Study Group. Dietary Fiber Intake Is Associated with Reduced Risk of Mortality from Cardiovascular Disease among Japanese Men and Women. The Journal of Nutrition (2010), 140, 1445-1453.

Fardet Anthony. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre? Nutrition Research Reviews (2010), 23, 65–134.

Frank Jan. Beyond vitamin E supplementation: An alternative strategy to improve vitamin E status. Journal of Plant Physiology 162 (2005) 834-843

Freedman LS, Kipnis V, Schatzkin A, Tasevska N, Potischman N. Can we use biomarkers in combination with self-reports to strengthen the analysis of nutritional epidemiologic studies? Epidemiologic Perspectives & Innovations 2010, 7:2.

Gadamer HG. Über die Verborgenheit der Gesundheit. Suhrkamp Verlag, Frankfurt am Main, 1. Aufl. 1993.

Garcia-Cañas V, Simò C, Leòn C, Cifuentes A. Advances in Nutrigenomics research: Novel and future analytical approaches to investigate the biological activity of natural compounds and food functions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 51 (2010) 290-403.

Gasiorowski K, Brokos B, Kulma A, Ogorzalek A, Skorkowska K. Impact of four antimutagens on apoptosis in genotoxically damaged lymphocytes in vitro. *Cell Mol Biol Lett*. 2001;6:649-675.

Gembeh SV, Brown RL, Grimm C, Cleveland TE. Identification of Chemical Components of Corn Kernel Pericarp Wax Associated with Resistance to *Aspergillus flavus* Infection and Aflatoxin Production *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 4635-4641.

Gliwa J, Gunenc A, Ames N, Willmore WG, Hosseinian FS. Antioxidant Activity of Alkylresorcinols from Rye Bran and Their Protective Effects on Cell Viability of PC-12 AC Cells. *J. of Agric. Food Chem.* 2011; A-J.

Hartung S. Was hält uns gesund? Gesundheitsressourcen: Von der Salutogenese zum Sozialkapital. In: Schott T und Hornberg C. *Die Gesellschaft und ihre Gesundheit. 20 Jahre Public Health in Deutschland Bilanz und Ausblick einer Wissenschaft.* Volume: 1, VS Verlag für Sozialwissenschaften, Springer Fachmedien Wiesbaden GmbH 2011, 235-254.

Holmes E, Loo RL, Stamler J, Bictash M, Yap IK, Chan Q, Ebbels T, De IM, Brown IJ, Veselkov KA, Daviglus ML, Kesteloot H, Ueshima H, Zhao L, Nicholson JK, Elliott P (2008a). Human metabolic phenotype diversity and its association with diet and blood pressure. *Nature* 453; 396–400

Jenab M, Slimani N, Bictash M, Ferrari, Bingham SA. Biomarkers in nutritional epidemiology: application, needs and new horizons. *Hum Genet* (2009) 125:507-525.

Kaput J, Rodriguez RL. Nutritional genomics: The next frontier in the postgenomic era (2004). *Physiological Genomics*, 16, 166-177.

Knödler M, Most M, Schieber A, Cale R. A novel approach to authenticity control of whole grain durum wheat (*Triticum durum* Desf.) flour and pasta, based on analysis of alkylresorcinol composition. *Food Chemistry* 118 (2010) 177-181.

Koskela A, Linko-Parvinen AM, Hiisivuori P, Samaletdin A, Kamal-Eldin A, Tikkanen MJ, Adlercreutz H. Quantification of alkylresorcinol metabolites in urine by HPLC with coulometric electrode array detection. *Clin. Chem.* 2007, 53, 1380-1383.

Koskela A, Samaletdin A, Aubertin-Leheudre M, Adlercreutz H. Quantification of Alkylresorcinol Metabolites in Plasma by High-Performance Liquid Chromatography with Coulometric Electrode Array Detection. *J. Agric. Food Chem.* (2008), 56, 7678–7681.

Kozubek A und Tyman JH. Resorcinolic lipids, the natural non-isoprenoid phenolic amphiphiles and their biological activity. *Chemical Reviews* (1999), 99/1, 1-25.

Kranz S, Brauchla M, Slavin JL, Miller KB. What Do We Know about Dietary Fiber Intake in Children and Health? The Effects of Fiber Intake on Constipation, Obesity, and Diabetes in Children. *American Society for Nutrition* (2012), 3, 47-53.

Kristensen MB, Toubro S, Jensen MG. Whole grain compared to refined wheat decreases body fat following a 12-week calorie restricted dietary intervention in postmenopausal women. Submitted. *Journal of Nutrition*.

Kubo I, Komatsu S, Ochi M. Molluscicides from the cashew *Anacardium occidentale* and their largescale isolation. *J Agric Food Chem.* 1986;34:970–973.

Kussmann M, Raymond F, Affolter M. OMICS-driven biomarkers discovery in nutrition and health. *Journal of Biotechnology* 124 (2006) 758-787.

Lairon D, Arnault N, Bertrais S, Planells R, Clero E, Hercberg S, Boutron-Ruault MC. Dietary fiber intake and risk factors for cardiovascular disease in French adults. *Am J Clin Nutr* (2005), 82, 1185-1194.

Landberg R, Aman P, Friberg LE, Vessby B, Adlercreutz H, Kamal-Eldin A. Dose response of whole-grain biomarkers: alkylresorcinols in human plasma and their metabolites in urine in relation to intake. *Am J Clin Nutr*. 2009;89:290-6.

Landberg R, Andersson AAM, Åman P, Kamal-Eldin A. Comparison of GC and colorimetry for the determination of alkylresorcinol homologues in cereal grains and products. *Food Chemistry* (2009) 113/4, 1363-1369.

Landberg R, Kamal-Eldin A, Andersson SO, Johansson JE, Zhang JX, Hallmans G, Aman P. Reproducibility of Plasma Alkylresorcinols during a 6-Week Rye Intervention Study in Men with Prostate Cancer. *J. Nutr*. 139:975-980, 2009.

Lesko LJ und Atkinson AJ. Use of biomarkers and surrogate endpoints in drug development and regulatory decisionmaking: Criteria, Validation, Strategies. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*. 2001, 41:347-66.

Linko-Parvinen AM, Landberg R, Tikkanen MJ, Adlercreutz H, Peñalvo JL. Alkylresorcinols from Whole-Grain Wheat and Rye Are Transported in Human Plasma Lipoproteins. *J. Nutr*. 137: 1137-1142, 2007.

Linko AM, Parikka K, Wähälä K, Adlercreutz H. Gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of alkylresorcinols in human plasma. *Analytical Biochemistry* (2002), 308, 307-313.

Mendez MA, Pera G, Agudo A, Buena-de-Mesquita HB, Palli D, Boeing H, Carneiro F, Berrino F, Sacerdote C, Tumino R, Panico S, Berglund G, Manjer J, Johansson I, Stenling R, Martinez C, Dorronsoro M, Barricarte A, Tormo MJ, Quiros JR, Allen N, Key TJ, Bingham S, Linseisen J, Kaaks R, Overvad K, Jensen M, Olsen A, Tjønneland A, Peeters P, Numans ME, Ocké MC, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Trichopoulou A, Lund

E, Slimani N, Jenab M, Ferrari P, Riboli E, González CA. Cereal fiber intake may reduce risk of gastric adenocarcinomas: The EPIC-EURGAST study. *Int. J. Cancer*: 121, 1618-1623 (2007).

Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med* 2005;142:37-46.

Mitchell SC. Food idiosyncrasies: beetroot and asparagus. *Drug Metab Dispos* 2001;29:539-43.

Nagel G. Salutogenese. Verlag Hans Huber, Bern, Praxis 2000; 89: 356-359.

Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. „Metabonomics“: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. *Xenobiotica*, 1999, Vol. 29, No. 11: 1181-1189.

Parikka K, Rowland IR, Welch RW, Wahala K. In vitro antioxidant activity and antigenotoxicity of 5-n-alkylresorcinols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 1646-1650, 2006.

Primerose S, Draper J, Elsom R, Kirkpatrick V, Mathers JC, Seal C, Beckmann M, Haldar S, Beattie JH, Lodge JK, Jenab M, Keun H, Scalbert A. Metabolomics and human nutrition. *British Journal of Nutrition* (2011), 105, 1277-1283

Rosenbrock R. Was ist New Public Health? Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz (2001). Springer-Verlag 2001, 44; 753-762.

Ross AB, Becker W, Chen Y, Kamal-Eldin A, Aman P. Intake of alkylresorcinols from wheat and rye in the United Kingdom and Sweden. *British Journal of Nutrition* (April 2005), 94, 496-499.

Ross AB, Aman P, Kamal-Eldin A. Identification of cereal alkylresorcinol metabolites in human urine-potential biomarkers of wholegrain wheat and rye intake. *Journal of Chromatography B*. 809 (2004) 125-130.

Ross AB, Kamal-Eldin A, Ph.D., Aman P. Dietary Alkylresorcinols: Absorption, Bioactivities, and Possible Use as Biomarkers of Whole-grain Wheat- and Rye-rich Foods. *Nutrition Reviews*, Vol. 62, No. 3; March 2004; 81-95.

Ross AB, Bruce SJ, Blondel-Lubrano A, Oguey-Araymon S, Beaumont M, Bourgeois A, Nielsen-Moennoz C, Vigo M, Fay LB, Kochhar S, Bibiloni R, Pittet AC, Emady-Azar S, Grathwohl D, Rezzi S. A whole-grain cereal-rich diet increases plasma betaine, and tends to decrease total and LDL-cholesterol compared with a refined-grain diet in healthy subjects. *British Journal of Nutrition* (2011), 105, 1492–1502.

Ross AB. Present Status and Perspectives on the Use of Alkylresorcinols as Biomarkers of Wholegrain Wheat and Rye Intake. *Journal of Nutrition and Metabolism* (Sept. 2012), 1-12.

Schmitz G, Endres S, Götte D. Biomarker: Bedeutung für medizinischen Fortschritt und Nutzenbewertung; Schattauer Verlag 2008. S. 1-15.

Seebauer W. Krebs, Diabetes und Ernährung – Ergebnisse der EPIC-Studie. *Komplement. integr. Med.* 50 (2009), 19-26.

Shewry P, Charmet G, Branlard G, Lafiandra D, Gergely S, Salgó A, Saulnier L, Bedö Z, Mills E.N.C, Ward JL. Developing new types of wheat with enhanced health benefits. *Trends in Food Science & Technology* (2012) 1-8.

Stasiuk M und Kozubek A. Biological activity of phenolic lipids. *Cellular and Molecular Life Sciences* (2010), 67, 841-860.

Trojan A und Legewie H. Nachhaltige Gesundheit und Entwicklung. Leitbilder, Politik und Praxis der Gestaltung gesundheitsförderlicher Umwelt-und Lebensbedingungen. (2001) VAS, Frankfurt (436 Seiten).

Van Ommen B, Keijer J, Heil SG, Kaput J. Challenging homeostasis to define biomarkers for nutrition related health. *Mol. Nutr. Food Res.* 2009, 53, 795-804.

Wittwer J, Rubio-Aliaga I, Hoeft B, Bendik I, Weber P, Daniel H. Nutrigenomics in human intervention studies: Current status, lessons learned and future perspectives. *Mol. Nutr. Food Res.* 2011, 55, 341-358.

World Cancer Research Fund (2007) Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. World Cancer Research Fund; American Institute for Cancer Research, Washington, DC

World Organization of Gastroenterology. WGO-OMGE practice guideline: constipation 2010.

http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/05_constipation.pdf.
(Stand: 21.02.2012]

Zent-Przeworska E, Stasiuk M, Gubernator J, Kozubek A. Resorcinolic lipids improve the properties of sphingomyelin-cholesterol-liposomes. *Chemistry and Physics of Lipids* 163 (2010) 648-654.

Zhang X, Yap Y, Wei D, Chen G, Chen F. Novel omics technologies in nutrition research. *Biotechnology Advances* 26 (2008) 169-176.

Zhu Y, Conklin DR, Chen H, Wang L, Sang S. 5-Alk(en)ylresorcinols as the major active components in wheat bran inhibit human colon cancer cell growth. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19 (2011) 3973-3982.

9 Zusammenfassung

Gesundheit ist eines der Grundrechte jedes Menschen und dieses gilt es zu erhalten. Was man unter dem Begriff Gesundheit versteht und wie man den Krankheitszustand interpretieren kann, wird schon seit den 70er Jahren diskutiert. In der Medizin werden schon seit längerem sogenannte Biomarker zur Früherkennung von Krankheiten eingesetzt. Doch auch die Ernährungswissenschaft setzt auf Prävention und Gesundheitsförderung und verwendet Biomarker, um ernährungsabhängige Erkrankungen in Zukunft vermeiden zu können. Dass dabei genetische Konstanten eine Rolle spielen und deshalb nicht jeder Mensch den gleichen gesundheitlichen Nutzen aus Nährstoffen ziehen kann, brachte den Wissenschaftszweig der Nutrigenomik hervor, dessen Ziel es ist, anhand genetischer Informationen eine individualisierte Ernährung zu entwickeln. Ballaststoffe zählen schon lange zu den gesundheitsfördernden Inhaltsstoffen. Anhand einiger Studien konnte nachgewiesen werden, dass Ballaststoffe bei der Prävention gegen Dickdarmkrebs eine erhebliche Rolle spielen. Die tägliche empfohlene Aufnahmemenge für einen Erwachsenen sollten 30g/Tag. Wieviel jedoch tatsächlich von jedem Einzelnen aufgenommen wurde, war damit nicht klar. In dieser Arbeit wird näher auf Alkylresorcinole eingegangen, die als Biomarker in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen haben. Sie gehören zu den phenolischen Lipiden und kommen vorwiegend in Getreide vor, zudem können sie in Blut und Urin nachgewiesen werden. Daher sind sie als Marker für die Ballaststoffaufnahme geeignet. Aufgrund zahlreicher Untersuchungen und Analysen eignen sich Alkylresorcinole für weitere Anwendungen wie z.B. in der Authentizitätsprüfung von Lebensmitteln. Als weitere Merkmale sind u.a. ein antioxidativer, antimikrobieller Effekt oder der Einfluss auf die Eigenschaften von Sphingomyelin-Cholesterol-Liposomen zu nennen. Ob sich daraus tatsächlich Vorteile für die Gesundheit ableiten lassen, ist jedoch in weiteren Studien zu klären. Diese Arbeit soll einen Überblick über den derzeitigen Forschungsstand der Alkylresorcinole, im Speziellen als Biomarker, bieten.

10 Abstract

Health is a fundamental right of every human being and this should be maintained. Since the 70s it has been discussed, how to interpret the terms health and disease. Medicine has long used biomarkers for the early detection of diseases, but also the science of nutrition has used biomarkers for the prevention and health promotion to prevent food-related illnesses in the future. The fact that genetics constantly plays a role and not everyone can use nutrients in the same way is important for the nutrigenomics. They aim to develop a individualized diet on the basis of genetic information. One of an important health-promoting ingredients is fibre. Several studies demonstrated their role for the prevention of colon cancer. The recommended daily intake for an adult should be 30g/day. But it was unclear, how much actually was taken by each individual. This work describes that alkylresorcinol has become an important as a biomarker in the last few years. They are phenolic lipids, can be detected in blood and urine and are mainly found in cereals. That makes it useful as a marker for fibre intake. Based on numerous studies, alkylresorcinols can also be used for authenticity check of foodstuffs. Also an antioxidant, antimicrobial effect or the effect on the properties of sphingomyelin-cholesterol liposomes are described. But it needs further studies to describe the real effectiveness for health. This work gives an overview of the current state of alkylresorcinol research, especially as a biomarker.

Lebenslauf

Persönliche Daten:	Birgit Steinmaurer geb. am 01.10.1976 in Vöcklabruck ledig
Schul Ausbildung:	1983-1987 Volksschule in Attnang-Puchheim 1987-1991 Hauptschule in Attnang-Puchheim 1991-1992 Handelsschule in Lambach 2000-2002 Berufsreifeprüfung Bfi Linz
Berufsausbildung:	1992-1996 Fachschule für Kunsthandwerk in Steyr seit Oktober 2002 Studium der Ernährungswissenschaften, Universität Wien
Praktika:	Juli 1993 und Juli 1995 Fa. Hawle, Flanschen- und Armaturenwerk in Vöcklabruck Abteilung: Inlandsverkauf

Juli 1994

Gravuranstalt

in Gmunden

Mai 2008 – Oktober 2008

Institut für Ernährungswissenschaften

der Universität Wien

September 2010

LVA GmbH

1190 Wien

Berufstätigkeit:

September 1996 – Juli 1999

Fa. Waismayer, Stempel und Gravuren

in Wien

Dezember 1999-August 2002

Fa. Öhler, Stempel & Schilder GesmbH

in Linz

April 2004-Dezember 2005

Kino Auge Gottes

in Wien

Dezember 2005-Februar 2006

Fa. Sillam Juwelier

in Wien

November 2011-dato

LVA GmbH

2300 Klosterneuburg